



**University of  
Zurich**<sup>UZH</sup>

**Zurich Open Repository and  
Archive**

University of Zurich  
University Library  
Strickhofstrasse 39  
CH-8057 Zurich  
[www.zora.uzh.ch](http://www.zora.uzh.ch)

---

Year: 2013

---

## **Inborn errors of cobalamin absorption, transport and metabolism**

Sass, Jörn Oliver ; Baumgartner, M

**Abstract:** Cobalamin (Cbl, vitamin B12) is a cobalt-containing vitamin which is synthesized by bacteria and archaea. It can be taken up from food of animal origin, but not from higher plants. Various cobalamins differ in the residue R in the upper axial position of the molecule. In adenosylcobalamin (AdoCbl) R is a 5'-deoxyadenosyl moiety, in methylcobalamin (MeCbl) a methyl group. Common vitamin B12 supplements contain hydroxocobalamin (OHCbl, labelled "the natural form of the vitamin", with R = OH) or cyanocobalamin (CNCbl, with R = CN). CNCbl does not occur naturally, but is formed during the isolation of bacterial cobalamin (Watkins Rosenblatt, 2011a). Nominations such as cblA-cblG and cblJ do not refer to special forms of cobalamin, but to enzymes and transport proteins involved in intracellular cobalamin metabolism. Each of those designations refers to a different complementation group and to a defect in cobalamin metabolism caused by mutations in the gene identified for this particular complementation group (Fowler et al., 2008).

Other titles: Defectos congénitos de la absorción y el metabolismo de la cobalamina

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich  
ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-97360>  
Conference or Workshop Item  
Published Version

Originally published at:

Sass, Jörn Oliver; Baumgartner, M (2013). Inborn errors of cobalamin absorption, transport and metabolism. In: ACTA Pediátrica Española, Congreso nacional de Errores Congénitos del Metabolismo, 1 September 2013 - 2 September 2013. Ediciones Mayo S.A., 18-21.

# Acta PEDIÁTRICA

ESPAÑOLA

Acta Pediatr Esp. 2013; 71 (Supl): Sxx-Sxx

10°

## CONGRESO NACIONAL DE ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO

Barcelona,  
1-2 septiembre 2013



# Abstracts

NUTRICIA  
Metabolics

  
AECOM

 **Mayo**  
EDICIONES



# 10º CONGRESO NACIONAL DE ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO

**Barcelona,  
1-2 septiembre 2013**

Edita:



© 2014 Asociación Española para el Estudio de los Errores  
Congénitos del Metabolismo (AECOM)  
© 2014 Ediciones Mayo, S.A.

Acta Pediatr Esp. 2013; 71 (Supl.): S1-S57  
Director y editor de *Acta Pediátrica Española*: J. Dalmau Serra  
Subdirector: J.M. Moreno Villares

ISSN: 0001-6640

Reservados todos los derechos. No se puede reproducir ninguna parte de esta publicación, ni almacenarla en cualquier sistema recuperable, ni transmitirla por ningún medio electrónico, mecánico, fotocopiado, en discos, ni por cualquier otra forma de transmisión de información, sin la previa autorización del titular del *copyright*.

[www.edicionesmayo.es](http://www.edicionesmayo.es)

## **JUNTA DIRECTIVA**

<b>Presidente:</b>	Luis Aldámiz-Echeverría Azuara
<b>Vicepresidente:</b>	José Ángel Cocho de Juan
<b>Secretaría:</b>	Marisa Girós Blasco
<b>Tesorería:</b>	Isidro Vitoria Miñana
<b>Vocales:</b>	Begoña Merinero Cortés Inmaculada García Jiménez

## **COMITÉ ORGANIZADOR**

<b>Presidente:</b>	Luis Aldámiz-Echeverría Azuara <i>Hospital Universitario de Cruces Baracaldo (Vizcaya)</i>
<b>Vicepresidente:</b>	Mireia del Toro Riera <i>Hospital Universitario Vall d'Hebron Barcelona</i> Guillem Pintos Morell <i>Hospital Universitario Germans Trias i Pujol Badalona (Barcelona)</i>
<b>Vocales:</b>	Isidro Vitoria Miñana <i>Hospital Universitario La Fe Valencia</i> Marisa Girós Blasco <i>Instituto Bioquímica Clínica. Hospital Clínic Barcelona</i> M. <sup>a</sup> Concepción García Jiménez <i>Hospital Universitario Miguel Servet Zaragoza</i> José Ángel Cocho de Juan <i>Complejo Hospitalario Universitario de Santiago Santiago de Compostela</i> Begoña Merinero Cortés <i>CEDEM - Universidad Autónoma de Madrid</i>

## **COMITÉ CIENTÍFICO**

<b>Presidente:</b>	Hugo Rocha <i>Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética. Departamento de Genética Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge Porto (Portugal)</i>
<b>Vocales:</b>	Guillem Pintos Morell <i>Hospital Universitario Germans Trias i Pujol Badalona (Barcelona)</i> Domingo González-Lamuño Leguina <i>Universidad de Cantabria Cantabria</i> Jaime Dalmau Serra <i>Hospital Universitario La Fe Valencia</i> Mari Luz Couce Picó <i>Complejo Hospitalario Universitario de Santiago Santiago de Compostela</i> Pedro Ruiz Sala <i>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares Madrid</i>

# PROGRAMA

## ■ MESA REDONDA

### 11.00-12.30 **Enfermedades metabólicas hereditarias nuevas**

*Moderadora: Dra. Begoña Merinero*

- **Inborn errors of riboflavin metabolism. The top of the iceberg?**  
*Dra. Christine Vianey-Saban*
- **Nuevos defectos en la regulación del complejo  $\alpha$ -cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa**  
*Dra. Pilar Rodríguez-Pombo*
- **Deficiencia de fosfoglucomutasa: ¿una glucogenosis o un defecto congénito de glicosilación?**  
*Dra. Celia Pérez-Cerdá*

## ■ CONFERENCIA INVITADA

### 13.00-14.00 **Células madre y medicina regenerativa**

*Prof. Juan Carlos Izpisua Belmonte*

*Presentación: Dr. Antonio Baldellou Vázquez*

### 15.30-16.30 **Desarrollo del pensamiento metabólico**

*Prof. Hans Böhles*

*Presentación: Dr. Pablo Sanjurjo Crespo*

### 17.00-18.00 **Diagnóstico y tratamiento de las mucopolisacaridoses**

*Prof. Paul R Hartz, MD*

*Presentación: Dra. María Bueno Delgado*

## ■ TALLERES DE TRABAJO (WORKSHOPS)

### **En enfermedades lisosomales: ¿quién, cómo y cuándo tratar?**

*Ponentes: Dr. Guillem Pintos Morell (Moderador) / Dra. Mireia del Toro Riera*

### **Paneles génicos basados en la tecnología de secuenciación masiva como herramienta de apoyo al diagnóstico clínico**

*Ponentes: Dra. Judith Armstrong Moron (Moderadora) / Dr. Luis González Gutiérrez-Solana / Dra. Ana F. Marmiesse*

### **Defectos congénitos de la absorción y el metabolismo de la cobalamina**

*Ponentes: Dra. M.ª Concepción García Jiménez (Moderadora) / Prof. Dr. Jörn Oliver Sass / Dra. Belén Pérez Dueñas*

### **Aplicación clínica de las técnicas de estudio del genoma completo y traslación del conocimiento en enfermedades raras**

*Ponentes: Dr. Domingo González-Lamuño (Moderador) / Dra. Encarna Guillén Navarro*

### **Manejo nutricional de errores innatos del metabolismo**

*Ponentes: Dr. Jaime Dalmau Serra (Moderador) / Dr. Luis Peña Quintana / Dr. Isidro Vitoria Miñana*

### **Galactosemia: del recién nacido al adulto. Traslación desde Pediatría a Unidades de Adultos en los errores congénitos del metabolismo**

*Ponentes: Dra. Esperanza N. Castejón (Moderadora) / Dra. M.ª Luz Couce Picó / Dra. María Forga / Dra. Estela Rubio*

## ■ PÓSTERES

### 10.30-11.00 **Sesión 1**

### 16.30-17.00 **Sesión 2**

# ÍNDICE

## ■ MESA REDONDA

<b>Enfermedades metabólicas hereditarias nuevas</b>	6
<i>Moderadora: Dra. Begoña Merinero</i>	
• Inborn errors of riboflavin metabolism. The top of the iceberg?	6
<i>C. Vianey-Saban</i>	
• Nuevos defectos en la regulación del complejo $\alpha$ -cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa	10
<i>P. Rodríguez-Pombo</i>	
• Deficiencia de fosfoglucomutasa, ¿una glucogenosis o un defecto congénito de glicosilación?	12
<i>B. Pérez, C. Medrano, M.J. Eca, P. Ruiz-Sala, M. Ugarte, M. Martínez, C. Pérez-Cerdá</i>	

## ■ WORKSHOPS

<b>Paneles génicos basados en la tecnología de secuenciación masiva como herramienta de apoyo al diagnóstico clínico</b>	15
<i>Moderadora: Dra. Judith Armstrong Moron</i>	
• Introducción	15
<i>J. Armstrong</i>	
• Paneles génicos basados en tecnología de secuenciación masiva como herramienta de apoyo al diagnóstico clínico	16
<i>L. González Gutiérrez-Solana</i>	
<b>Defectos congénitos de la absorción y el metabolismo de la cobalamina</b>	18
<i>Moderadora: Dra. M.<sup>a</sup> Concepción García Jiménez</i>	
• Inborn Errors of Cobalamin Absorption, Transport and Metabolism	18
<i>J.O. Sass, M.R. Baumgartner</i>	
<b>Manejo nutricional de errores innatos del metabolismo</b>	21
<i>Moderador: Dr. Jaime Dalmau Serra</i>	
• Deficiencias de la betaoxidación mitocondrial de los ácidos grasos	21
<i>L. Peña Quintana</i>	
• Manejo nutricional de errores innatos del metabolismo. Aminoacidopatías	24
<i>I. Vitoria Miñana</i>	
<b>Galactosemia: del recién nacido al adulto. Traslación desde Pediatría a unidades de adultos en los errores congénitos del metabolismo</b>	26
<i>Moderadora: Dra. Esperanza N. Castejón</i>	
• Cribado neonatal de la galactosemia. Repercusión en la historia natural	26
<i>M.L. Couce</i>	
• European-American Galactosemia Network: objetivos y estrategias	27
<i>M.E. Rubio-Gozalbo</i>	

## ■ PÓSTERES 29

## ■ ÍNDICE DE AUTORES 56



# Enfermedades metabólicas hereditarias nuevas

Ponentes: *Dra. Christine Vianey-Saban, Dra. Pilar Rodríguez-Pombo, Dra. Celia Pérez-Cerdá*

Moderadora: *Dra. Begoña Merinero*

## Inborn errors of riboflavin metabolism. The top of the iceberg?

C. Vianey-Saban

*Service Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal.  
Centre de Biologie et de Pathologie Est. Lyon (Francia)*

### Role of riboflavin

Riboflavin or vitamin B<sub>2</sub>, is the precursor of two coenzymes, flavin adenin dinucleotide (FAD) and flavin mononucleotide (FMN). FAD is the essential cofactor for the 2 electron transporters: Electron Transfer Flavoprotein (ETF), and Electron Transfer Flavoprotein ubiQuinone Oxidoreductase (ETF-QO). ETF and ETF-QO are common to elevate ETF dependent dehydrogenases, which have themselves FAD as cofactor, and are involved in five metabolisms: fatty acid oxidation (very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase [VLCAD]; long-chain acyl-CoA dehydrogenase [LCAD]; medium-chain acyl-CoA dehydrogenase [MCAD]; short-chain acyl-CoA dehydrogenase [SCAD]), branched-chain amino acids metabolism (isovaleryl-CoA dehydrogenase, isobutyryl-CoA dehydrogenase, and 2-methylbutyryl-CoA dehydrogenase), choline metabolism (sarcosine dehydrogenase, and dimethylglycine dehydrogenase), lysine metabolism (glutaryl-CoA dehydrogenase) and a metabolite-repair enzyme (L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase). However FAD and FMN are the cofactors for many other enzymes called flavoproteins: 12 of them use FMN, 64 enzymes use FAD and 5 enzymes utilize both FAD and FMN. The majority of human flavoproteins are oxidoreductases, and are found in mitochondria. Numerous flavoproteins are involved in the biosynthesis of other cofactors such as coenzyme-A, coenzyme-Q (ubiquinone), heme and in the metabolism of other vitamins such as folate, cobalamins or pyridoxal-5'-phosphate. In most flavoproteins, the flavin cofactor is tightly but non-covalently bound. Succinate dehydrogenase (in complex II of respiratory chain), dihydrolipoamide dehydrogenase (E<sub>3</sub>, common to branched-

chain 2-ketodehydrogenase, 2-ketoglutarate dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase, and glycine cleavage system), glutathione reductase (involved in protection against oxidative stress), or methylene tetrahydrofolate reductase are some of these flavoproteins).<sup>1</sup>

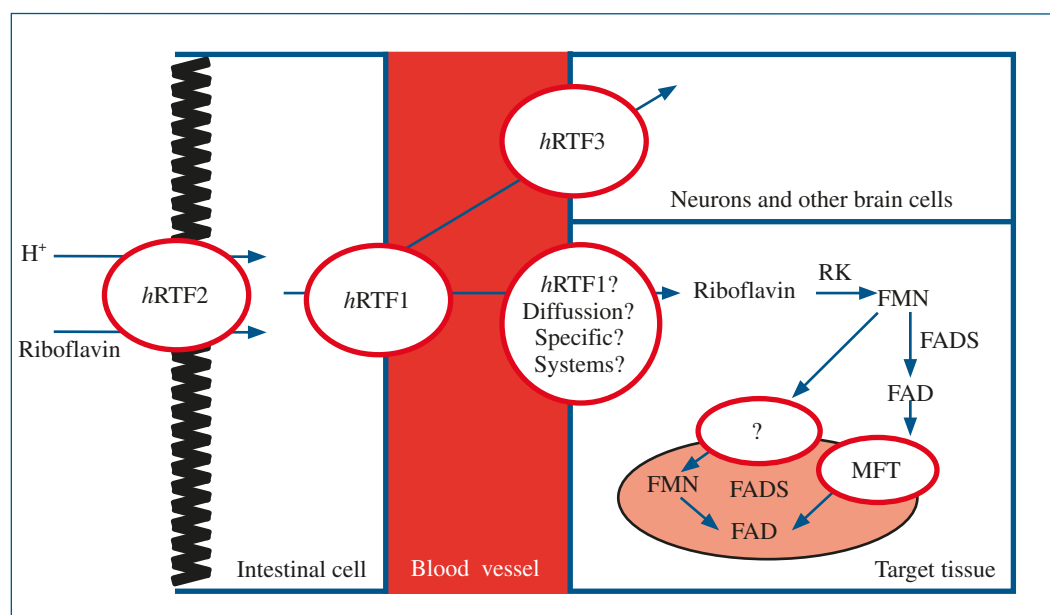
### Metabolism of riboflavin

#### Sources

Riboflavin is a water-soluble vitamin. Milk and dairy products are the greatest contributors to the intake in Western diets, but meat and fish are also good sources. Certain fruits and vegetables, especially dark-green vegetables, contain relatively high concentrations. Recommended intakes range from 0.4 mg/day in infancy to 1.8 mg/day in adult females during lactation. Riboflavin is degraded by light but is relatively heat-stable. Biochemical signs of riboflavin depletion arise within only a few days of dietary deprivation. Poor riboflavin status interferes with iron handling and contributes to anemia when iron intakes are low. It is also implicated as a risk factor for cancer, cardiovascular disease, and neurodegeneration. Small amount of riboflavin is present in food as free riboflavin; most is present as FAD, and a smaller amount occurs as FMN, both non-covalently bound to enzymes. Milk and eggs contain appreciable quantities of riboflavin bound to specific binding protein.<sup>2,3</sup>

#### Absorption

Absorption takes place in the proximal small intestine and partly in the colon. FMN and FAD are hydrolyzed to riboflavin by non-specific phosphatases in the brush border



**Figure 1.** Simplified scheme of riboflavin metabolism

membranes of enterocytes. The intestinal cellular uptake of riboflavin is saturable, as well as the renal reabsorption.<sup>2,3</sup>

Three riboflavin transporters have been identified so far. Riboflavin transporter 1 (*hRFT1*, renamed *RFVT1*),<sup>4</sup> coded by *SLC52A1* gene (formally named *GPR172B*) has been identified<sup>5</sup> in 2008, and is located in the plasma membrane. It is mainly expressed in small intestine, placenta and kidney, but is ubiquitous. It is a high affinity transporter, which insures  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and pH independent transport of riboflavin and could play an important role in the homeostasis of riboflavin. *SLC52A1* gene is highly conserved among several species and therefore is likely an important gene for survival<sup>4</sup>. Riboflavin transporter 2 (*hRFT2*, renamed *RFVT3*)<sup>4</sup> is coded by *SLC52A3* gene (formally named *C20orf54* gene). *RFVT3*, identified<sup>6</sup> in 2009, is efficient in acidic conditions, saturable, and inhibited by FMN and FAD. It is located at the apical membrane domain, and is highly expressed in ileum, jejunum, testis and prostate, and therefore plays a role in intestinal absorption of riboflavin. Riboflavin transporter 3 (*hRFT3*, renamed *RFVT2*)<sup>4</sup> is coded by *SLC52A2* gene (formally named *GPR172A*). Identified<sup>7</sup> in 2010, it is expressed ubiquitously, but mainly in brain and salivary glands. It ensures  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and pH independent transport of riboflavin.

### Intracellular metabolism

Riboflavin may enter the plasma as the free form or as FMN. Free riboflavin is transported in the plasma bound to albumin and to some immunoglobulins. In plasma, the mean concentration for FAD is 75 nmol/L (range: 36-170), whereas riboflavin and FMN concentrations are lower (mean: 10 nmol/L [range: 4-60]; mean: 7 nmol/L [range: 3-25], respectively). In tissues, almost all riboflavin is enzyme bound, such as FAD bound to succinate dehydrogenase. Excess riboflavin, as well as FAD and FMN, are excreted in

the urine as riboflavin *per se* or as 7-hydroxy and 8-hydroxy-flavins, through an unknown catabolic reaction. Inside the cell, the phosphorylation of riboflavin to form flavin mononucleotide (FMN) is catalysed by a cytosolic enzyme, riboflavin kinase also called flavokinase (EC 2.7.1.26), in the presence of ATP and  $\text{Mg}^{2+}$ . A second enzyme, FAD synthetase *FADS* (EC 2.7.7.2) also called ATP-FMN adenylyl transferase, converts FMN to FAD in an ATP-dependent reaction. Two different isoforms of *FADS* have been identified: *hFADS1*, localised in mitochondria, and *hFADS2*, a soluble isoform which binds FAD very tightly, although non covalently. FAD release may represent the rate-limiting step of the catalytic cycle leading to FAD synthesis and delivery of FAD to apo-flavoproteins. In 2005, Spaan et al.,<sup>8</sup> identified the human orthologue of the yeast mitochondrial FAD transporter, called MFT, which had previously been identified as the human mitochondrial folate transporter. MFT facilitates the transport of FAD from the cytosol to the mitochondria or vice versa, therefore controlling the flavin homeostasis in the mitochondria<sup>2</sup> (figure 1) summarizes what is known on riboflavin metabolism.

### Inborn errors of riboflavin metabolism

So far, only three inborn errors of riboflavin metabolism have been identified.

Riboflavin transporter 1 (*hRFT1*, *RFVT1*) deficiency, identified in only one patient, is inherited as a dominant disorder.<sup>9</sup> This asymptomatic adult woman presented a heterozygous *de novo* microdeletion (1.9 kb, spanning exon 2 and 3) in the *SLC52A1* gene (*GPR172B*). The first child of this mother presented, soon after birth, the clinical and biochemical features of multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD), but her clinical condition improved dra-

**TABLE 1. CLINICAL AND BIOCHEMICAL SUMMARY OF PATIENTS IDENTIFIED WITH INBORN ERRORS OF RIBOFLAVIN TRANSPORT**

Transporter (gene)	<i>hRFT1</i> / <i>RFVT1</i> ( <i>SLC52A1</i> )	<i>hRFT2</i> / <i>RFVT3</i> ( <i>SLC52A3</i> )	<i>hRFT3</i> / <i>RFVT2</i> ( <i>SLC52A2</i> )	MFT (MFT)
Number of patients [Reference]	1 [9]	19 [10-15]	7 [17-19]	0
Inheritance	Dominant	Autosomal recessive	Autosomal recessive	?
Clinical symptoms	Asymptomatic	BVVL/FL	BVVL/FL	?
Flavin levels	\$	↓/N	↓/N	?
Blood acylcarnitines	MADD-like	MADD-like/N	MADD-like/N	MADD-like?
Urinary organic acids	?	MADD-like/N	MADD-like/N	MADD-like?
Riboflavin responsiveness	+	– to ++	+	+ ?

BVVL= Brown-Vialetto-Van Laere syndrome; FL= Fazio-Londe syndrome; MADD= multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency.

matically within 24 hours with riboflavin supplementation. The mother had low flavin levels and an abnormal plasma acylcarnitine profile, corrected by riboflavin supplementation. During the subsequent pregnancy, the mother has been on riboflavin supplementation, and the second child was asymptomatic. Manifestation of the MADD-like phenotype in only the infant can be attributed to the greater demand for nutrients in the growing foetus, as well as the high expression of *hRFT1* in placenta.

Riboflavin transporter 2 deficiency (*hRFT2* or *RFTV3*), transmitted as an autosomal recessive trait, has been identified for the first time in 2011 in 3 patients from 2 families with the clinical phenotype of Brown-Vialetto-Van Laere syndrome or Fazio Londe disease,<sup>10</sup> and point mutations in the *SLC52A3* gene. All patients presented, from the age of 5 months, with hypotonia, progressive muscle weakness, respiratory insufficiency due to diaphragmatic paralysis, but a normal cognitive development. The patient from the second family also presented sensorineural hearing loss. Blood acylcarnitines and urinary organics acid profiles were suggestive of mild MADD, although the profiles were variable, without glutarate metabolites. Plasma concentrations of riboflavin were decreased (except in patient 3), as well as FMN and FAD concentrations, despite a normal riboflavin intake. Riboflavin supplementation improved muscle tone and normalized the metabolic profile. At the same time, another group<sup>11</sup> reported the identification of mutations in the *SLC52A3* gene as the cause of the Brown-Vialetto-Van Laere syndrome or Fazio Londe disease in a large consanguineous family by autozygosity mapping. They subsequently identified mutations of *SLC52A3* gene in 7 patients from 6 families but no metabolic investigation, no therapeutic attempt were performed. A few months later, mutations in the same gene were identified by whole-exome sequencing in 2 families with Brown-Vialetto-Van Laere syndrome.<sup>12</sup> No metabolic investigation was performed. Since then, 3 other patients have been identified,<sup>13-15</sup> with a total of 19 patients described. Mutations in *SLC52A3* gene affect the transporter functionality via alterations in membrane targeting and/or activity of the transporter.<sup>16</sup>

Riboflavin transporter 3 (*hRFT3*, *RFVT2*) deficiency was identified in 2012 by exome sequencing in 7 patients: a 5 year-old girl,<sup>17</sup> a consanguineous kindred (4 patients) and a 11 year-old girl,<sup>18</sup> and in 2013 a 2-year-old boy.<sup>19</sup> The clinical spectrum of all patients was consistent with Brown-Vialetto-Van Laere syndrome. Biochemical investigation, when performed, was variable from MADD-like urinary organic acids and acylcarnitines profiles, low plasma carnitine and flavin levels to normal results. In a patient, Western-blot analysis revealed a concomitant reduction of both *hRFT3* and *hRFT1* proteins.<sup>18</sup>

In 2013, Bosch et al.<sup>20</sup> reviewed the literature on Brown-Vialetto-van Laere and Fazio-Londe syndromes. They appear as rare syndromes, since less than 100 patients have been described, and are inherited as an autosomal recessive trait. The clinical presentation includes bulbar palsy (92%), hearing loss (81%), facial weakness (77%), and diaphragm paralysis (64%). Age of onset of symptoms varies with an early onset form (around 1.5 year of age) with a severe outcome (85% deceased), and a late onset form (between 8 and 13 years of age) with a less severe outcome (32% deceased). An abnormal acylcarnitines profile was reported in only 6 patients (4 with *hRFT2* deficiency and 2 with *hRFT3* deficiency). Low flavin levels were reported in 4 of them. In all patients, acylcarnitines and flavin levels normalized after riboflavin supplementation. Riboflavin supplementation (10 mg/kg/d per os) was tempted in 13 patients. Most patients (8/13) presented a strong improvement of muscle strength, motor function, and respiration, within some days to several months, even in patients with normal flavin levels. Five patients (5/13) were unresponsive to riboflavin supplementation: 2 with *hRFT2* deficiency, and 3 with no mutations in the 3 riboflavin transporter genes. Table I summarizes the clinical and biochemical presentation of patients described so far with an inborn error of riboflavin transport.

So far, no inborn errors of intracellular riboflavin metabolism have been reported. FAD synthetase or riboflavin kinase deficiency are predicted to affect all flavoproteins, and therefore are expected to be lethal. However, decreased mR-

NA expression levels of FAD synthetase and riboflavin kinase have been reported in amyotrophic lateral sclerosis with IgA gammopathy.<sup>21</sup> Mitochondrial FAD transporter (MFT) deficiency has not been reported so far but has to be searched in all patients with a clinical and biochemical suspicion of MADD but without mutation in the *ETFA*, *ETFB* and *ETFDH* genes.

## Conclusion

Little is yet known about riboflavin metabolism, but even less is known about inborn errors of riboflavin metabolism. In all patients with a MADD-like profile (abnormal blood acylcarnitines and urinary organic acids profiles, increase of sarcosine and dimethylglycine...), riboflavin supplementation (10 mg/kg/d or 150 mg/day) should be tempted. It is strongly recommended that mutation analysis of *ETFDH* (first), *ETFA* and *ETFB* genes be performed, and if found to be negative, an investigation of *SLC52A1*, *SLC52A2*, *SLC52A3*, and *MFT* genes should follow. If no sequence variation is detected, the final clue is to perform exome sequencing. Brown-Vialetto-van Laere syndrome shares diagnostic overlap with other motor neurone disorders, and with early onset childhood amyotrophic lateral sclerosis. Therefore, it can be speculated that metabolic investigation has to be undertaken in children with motor neurone disease and riboflavin supplementation should be tried.

## References

- Lienhart WD, Gudipati V, Macheroux P. The human flavoproteome. *Arch Biochem Biophys*. 2013; 535(2): 150-162.
- Barile M, Giancaspero TA, Brizio C, Panebianco C, Indiveri C, et al. Biosynthesis of flavin cofactors in man: implications in health and disease. *Current Pharmaceutical Design*. 2013; 19(14): 2.649-2.675.
- Powers HJ. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77(6): 1.352-1.360.
- Yonezawa A, Inui KI. Novel riboflavin transporter family RFVT/SLC52: identification, nomenclature, functional characterization and genetic diseases of RFVT/SLC52. *Mol Asp Med*. 2013; 34(2-3): 693-701.
- Yonezawa A, Matsuda S, Katsura T, Inui K. Identification and functional characterization of a novel human and rat riboflavin transporter, RTF1. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008; 295(3): C632-C641.
- Yamamoto S, Inoue K, Ohta KY, Fukatsu R, Maeda JY, Yoshido Y, et al. Identification and functional characterization of rat riboflavin transporter 2. *J Biochem*. 2009; 145(4): 437-443.
- Yao Y, Yonezawa A, Yoshimatsu H, Masuda S, Katsura T. Identification and comparative functional characterization of a new human riboflavin transporter hRFT3 expressed in the brain. *J Nutr*. 2010; 140(7): 1.220-1.226.
- Spaan AN, Ijlst L, van Roermund CWT, Wijburg FA, Wanders RJA, Waterham HR. Identification of the human mitochondrial FAD transporter and its potential role in multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol genet Metab*. 2005; 86(4): 441-447.
- Ho G, Yonezawa A, Masuda S, Inui KI, Sim KG, Carpenter K, et al. Maternal riboflavin deficiency, resulting in transient neonatal-onset glutaric aciduria type 2, is caused by a microdeletion in the riboflavin transporter gene *GPR172B*. *Hum Mutation*. 2010; 32(1): E1.976-E1.984.
- Bosch AM, Abeling NG, Ijlst L, Knoester H, van der Pol WL, Stroomer AEM, et al. Brown-Vialetto-van Laere syndrome is associated with a riboflavin transporter defect mimicking mild MADD: a new inborn of metabolism with potential treatment. *J Inher Metab Dis*. 2010; 34(1): 159-164.
- Green P, Wiseman M, Crow YJ, Houlden H, Riphagen S, Lin JP, et al. Brown-Vialetto-van Laere syndrome, a ponto-bulbar palsy with deafness, is caused by mutations in *C20orf54*. *Am J Hum Genet*. 2010; 86(3): 485-489.
- Johnson JO, Gibbs JR, van Madergem L, Houlden H, Singleton AB. Exome sequencing in Brown-Vialetto-van Laere syndrome. *Am J Hum Genet*. 2010; 87(4): 567.
- Anand G, Hasan N, Jayasal S, Huma Z, Ali T, Hull J, et al. Early use of high-dose riboflavin in a case of Brown-Vialetto-van Laere syndrome. *Dev Med Chil Neurol*. 2012; 54(2): 187-189.
- Koy A, Pillekamp F, Hoehn T, Waterham H, Klee D, Mataepek E, et al. Brown-Vialetto-Van Laere syndrome: a riboflavin-unresponsive patient with novel mutation in the *C20orf54* gene. *Pediatr Neurol*. 2012; 46(6): 407-409.
- Malafonte PJ, Clark HB, Castañeda-Sánchez I, Raisnesen J, Hatanpää KJ. Brown-Vianletto-Van Laere syndrome: clinical and neuropathologic findings with immunochemistry for C20orf54 in three affected patients. *Pediatr Dev Pathol*. 2013; 16 (5):364-371.
- Nabokina SM, Subramanian VS, Said HM. Effect of clinical mutations on functionality of the human riboflavin transporter-2 (hRFT-2). *Mol Genet Metabol*. 2012; 105(4): 652-657.
- Haack TB, Makowski C, Yao Y, Graf E, Hempel M, Wieland T, et al. Impaired riboflavin transport due to missense mutations in *SLC52A2* causes Brown-Vialetto-Van Laere syndrome. *J Inher Metab Dis*. 2012; 35(6): 943-948.
- Johnson JO, Gibbs JR, Megarbane A, Urtizbarea JA, Hernandez DG, Foley AR, et al. Exome sequencing reveals riboflavin transporter mutations as a cause of motor neurone disease. *Brain*. 2012; 135(pt 9): 2.875-2.882.
- Ciccolella M, Corti S, Catteruccia M, Petrini S, Tozzi G, Rizza T, et al. Riboflavin transporter 3 deficiency in infantile Brown-Vialetto-Van Laere disease: two novel mutations. *J Med Genet*. 2013; 50(2): 104-107.
- Bosch AM, Stroek K, Abeling NG, Waterham HR, Ijlst L, Wanders RJA. The Brown-Vianletto-Van Laere and Fazio-Londe syndrome revisited: natural history, genetics, treatment and future perspectives. *Orphan J Rare Dis*. 2012; 7: 83-88.
- Lin J, Diamanduros A, Chowdhury SA, Scelsa S, Latov N, Sadiq SA. Specific electron chain transport abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 2009; 256(5): 774-782.



## Nuevos defectos en la regulación del complejo $\alpha$ -cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa

P. Rodríguez-Pombo

*Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Centro de Biología Molecular. UAM-CSIC. Departamento de Biología Molecular. Universidad Autónoma de Madrid. CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER). IDIPAZ. Madrid*

Casi 60 años han transcurrido desde que el Dr. John Menkes<sup>1</sup> describiera por primera vez cuatro individuos de una misma familia con una enfermedad neurológica progresiva y olor característico de la orina (enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce), resultante de la deficiencia en alguno de los componentes catalíticos del complejo  $\alpha$ -cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa (BCKD)<sup>2</sup>. En este periodo, el conocimiento de las variantes génicas identificadas en los pacientes (más de 150 mutaciones catalogadas como patogénicas en <http://www.biobase-international.com/product/hgmd>, que se distribuyen de forma casi homogénea entre los genes *BCKDHA*, *BCKDHB* y *DBT*, que codifican para componentes catalíticos del complejo) ha permitido profundizar en los mecanismos moleculares de la deficiencia y ha facilitado el diagnóstico prenatal de dicha patología, modificando en algunos casos el curso natural de la enfermedad<sup>3-5</sup>. Sin embargo, como ocurre en otras enfermedades metabólicas hereditarias, persisten pequeños grupos de pacientes con diagnóstico clínico y bioquímico de Jarabe de Arce, para los que aún se desconoce la causa genética.

El complejo BCKD, en la ruta catabólica de los aminoácidos ramificados (isoleucina, valina y leucina [BCAA]), forma parte de una familia de maquinarias macromoleculares altamente conservadas en eucariotas, conocidas como complejo  $\alpha$ -cetoácido deshidrogenasa, que también incluye los complejos piruvato deshidrogenasa (PDH) y  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa ( $\alpha$ -KG). Consta de múltiples copias de cuatro tipos de subunidades catalíticas codificadas por cuatro genes diferentes: E1 $\alpha$ -*BCKDHA* (MIM#608348), E1 $\beta$ -*BCKDHB* (MIM#24861), E2-*DBT* (MIM#248610) y E3-*DLSD* (MIM#238331). Como complejo BCKD, el complejo BCKD se regula por un mecanismo de fosforilación reversible de la subunidad E1 $\alpha$  mediado por la enzima BCKD-cinasa, que provoca su inactivación. La BCKD-cinasa, codificada por el gen nuclear *BCKDK* (NM\_005881.3), es miembro de una familia de proteínas cinasas mitocondriales a la que también pertenecen las distintas isoformas de la piruvato deshidrogenasa cinasa (PDK). Se ha descrito que el ayuno o la diabetes estimulan la actividad BCKD decreciendo el grado de fosforilación del complejo enzimático. Con respecto a la enzima que defosforila la subunidad E1 $\alpha$ , devolviéndola a su forma más activa, en 2009 se reporta una fosfatasa de localización mitocondrial (la PP2Cm), codificada por el gen *PPM1K* (NM\_152542.3), para la que se había descrito un papel básico como reguladora de la permeabilidad mitocondrial esencial para la supervivencia celular<sup>6,7</sup> y capaz de interactuar con las subunidades E1 $\alpha$  y E2 del complejo BCKD, provocando la defosforilación de la subunidad E1 $\alpha$ <sup>7</sup>.

A pesar del extenso conocimiento del complejo BCKD no se habían descrito situaciones patológicas relacionadas con el funcionamiento defectuoso de sus proteínas reguladoras. En los últimos dos años, la implementación de técnicas genómicas de alto rendimiento aplicadas a descifrar la causa genética de entidades clínicas sin diagnóstico molecular ha incrementado también el número de genes y patologías relacionadas con la ruta de degradación de los aminoácidos ramificados. Así, en el año 2012 se publica el primer caso de Jarabe de Arce, resultante de mutaciones en el gen *PPM1K* que codifica para la proteína fosfatasa PP2Cm<sup>8</sup>. También en 2012, resaltando la importancia de la homeostasis de los aminoácidos ramificados en humanos, se reportan los primeros casos de autismo relacionados con la deficiencia en la enzima  $\alpha$ -cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa cinasa (BCKDK), cuya firma de identidad metabólica es la reducción significativa en los niveles de aminoácidos ramificados en fluidos fisiológicos<sup>9</sup>.

### Defectos en el gen «PPM1K» en paciente con una forma variante suave de Jarabe de Arce

Que un defecto en la fosfatasa que defosforila el complejo, y por tanto lo mantiene en la forma enzimáticamente más activa, podría evidenciarse como una forma «variante» de Jarabe de Arce se sospechaba desde hacía tiempo, pero se desconocía la proteína implicada en tal función. Resultados previos obtenidos tras el silenciamiento del gen *PPM1K* en ratón<sup>7</sup> señalaban a la proteína PP2Cm como la fosfatasa responsable de la defosforilación del complejo BCKD.

El primer y único caso de paciente con Jarabe de Arce asociado a defecto en el gen *PPM1K* descrito hasta la fecha<sup>8</sup> es una paciente española con diagnóstico clínico de Jarabe de Arce variante y para la que no se habían identificado mutaciones en los genes *BCKDHA*, *BCKDHB* y *DBT*. Tras completar un estudio de reordenamiento genómico mediante array de genotipado, la pérdida completa de heterocigosidad en el cromosoma 4 llevó a la exploración del gen *PPM1K*, localizado en la región 4q22.1, que codifica para la fosfatasa PP2Cm, como mejor candidato para ser responsable de la patología de la paciente. La secuenciación convencional de dicho gen concluyó con la identificación en homocigosis de la mutación c.417\_418delTA, ausente de 300 alelos caucásicos sanos. La demostración última de la relación entre defecto genético y patología requirió el análisis funcional del cambio

mediante co-localización intracelular de las proteínas normal y mutante y estudios de expresión mediante western blot. La mutación provocaba la aparición de un codón de parada prematura que generaba una proteína truncada altamente inestable no visualizable ni en microscopía ni en estudios de western blot. La demostración última de la relación entre la mutación *PPM1K* c.417\_418delTA y la condición de Jarabe de Arce se obtuvo tras el rescate de la actividad BCKD deficiente en fibroblastos del paciente como consecuencia de la expresión ectópica de la PP2Cm humana normal. Este estudio planteó además una nueva dimensión en la comprensión de la patogénesis del Jarabe de Arce, ya que la PP2Cm también está implicada en otros procesos celulares relacionados con la respuesta al estrés y la supervivencia celular, corroborando nuevamente que incluso para enfermedades largamente conocidas como el Jarabe de Arce puede aparecer nueva información relevante para entender su etiopatogénesis.

## Mutaciones en el gen «BCKDK» en pacientes autistas

El siguiente gran hito en la elucidación de nuevos genes y patologías en la ruta de degradación de aminoácidos ramificados ha sido la identificación de mutaciones de pérdida de función en el gen *BCKDK* en tres familias consanguíneas con miembros sanos y enfermos con autismo, epilepsia y discapacidad intelectual<sup>9</sup>. La acción combinada de secuenciación masiva y posterior confirmación por Sanger llevó a la identificación de tres genotipos diferentes, ausentes en individuos control de la misma etnia; dos de ellos correspondientes a las mutaciones *BCKDK* nulas (p.M74fs y p.R156\*) y el tercero de cambio de aminoácido (p.R224P). Asociado a la deficiencia en BCKD-cinasa, los pacientes presentaban reducciones en los niveles de proteína E1 $\alpha$ -fosforilada y BCAA plasmáticos. Estudios previos en modelos animales (ratón *BCKDK*<sup>(-/-)</sup>)<sup>10</sup> ya habían mostrado que asociado al defecto en la proteína BCKD-cinasa se producía un catabolismo incrementado de aminoácidos ramificados y un fenotipo que incluía graves alteraciones neurológicas con incrementos en la espasticidad y convulsiones epilépticas, reversibles mediante un tratamiento dietético que enriquecía la dieta habitual con un suplemento de aminoácidos ramificados<sup>9</sup>. Corroborando la presencia de pacientes autistas con defectos en el gen *BCKDK* en diferentes poblaciones, García-Cazorla et al.<sup>11</sup> han descrito muy recientemente dos nuevos pacientes con mutaciones *BCKDK* de pérdida de función y aportado datos relevantes sobre la mejoría clínica y

reversión del fenotipo bioquímico mediante tratamiento con una dieta hiperproteica, suplementada con BCAA. Los datos disponibles hasta la fecha efectivamente sugieren que podríamos estar ante una forma tratable de autismo.

**Financiación.** Parte del trabajo ha sido financiado con ayudas de la Fundación Ramón Areces (CIVP16A1853) y el Ministerio de Economía y Competitividad (PI12/02078).

## Bibliografía

1. Menkes JH, Hurst PL, Craig JM. A new syndrome: progressive familial infantile cerebral dysfunction associated with an unusual urinary substance. *Pediatrics*. 1954; 14(5): 462-467.
2. Chuang DT, Shih VE. Maple syrup urine disease (branched chain ketoaciduria). En: Scriver CR, ed. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. Nueva York: McGraw-Hill, 2001; 1.971-2.005.
3. Nellis MM, Kasinski A, Carlson M, Allen R, Schaefer AM, Schwartz EM, et al. Relationship of causative genetic mutations in maple syrup urine disease with their clinical expression. *Mol Genet Metab*. 2003; 80(1-2): 189-195.
4. Henneke M, Flaschker N, Helbling C, Muller M, Schadowaldt P, Gartner J, et al. Identification of twelve novel mutations in patients with classic and variant forms of maple syrup urine disease. *Hum Mutat*. 2003; 22(5): 417.
5. Rodríguez-Pombo P, Navarrete R, Merinero B, Gómez-Puertas P, Ugarte M. Mutational spectrum of maple syrup urine disease in Spain. *Hum Mutat*. 2006; 27(7): 715.
6. Lu G, Ren S, Korge P, Choi J, Dong Y, Weiss J, et al. A novel mitochondrial matrix serine/threonine protein phosphatase regulates the mitochondria permeability transition pore and is essential for cellular survival and development. *Genes Dev*. 2007; 21(7): 784-796.
7. Lu G, Sun H, She P, Youn JY, Warburton S, Ping P, et al. Protein phosphatase 2Cm is a critical regulator of branched-chain amino acid catabolism in mice and cultured cells. *J Clin Invest*. 2009; 119(6): 1.678-1.687.
8. Oyarzabal A, Martínez-Pardo M, Merinero B, Navarrete R, Desviat LR, Ugarte M, Rodríguez-Pombo P. A novel regulatory defect in the branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex due to a mutation in the *PPM1K* gene causes a mild variant phenotype of maple syrup urine disease. *Hum Mutat*. 2013; 34(2): 355-362.
9. Novarino G, El-Fishawy P, Kayserili H, Meguid NA, Scott EM, Schroth J, et al. Mutations in BCKD-kinase Lead to a Potentially Treatable Form of Autism with Epilepsy. *Science*. 2012; 338(6.105): 394-397.
10. Joshi MA, Jeoung NH, Obayashi M, Hattab EM, Brocken EG, Liechty EA, et al. Impaired growth and neurological abnormalities in branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase kinase-deficient mice. *Biochem J*. 2006; 400(1): 153-162.
11. García-Cazorla A, Oyarzabal A, Fort J, Robles C, Bodo S, Palacín M, et al. A potentially treatable condition presenting with developmental delay and autistic behavior in two patients with missense changes in the *BCKDK* gene. *J Inher Metab Dis*. 2013; 36(Suppl 2): O-034.

## Deficiencia de fosfoglucomutasa, ¿una glucogenosis o un defecto congénito de glicosilación?

B. Pérez<sup>1,2,3,4</sup>, C. Medrano<sup>1,2,3,4</sup>, M.J. Ecay<sup>1,3,4</sup>, P. Ruiz-Sala<sup>1,3,4</sup>, M. Ugarte<sup>1,3,4</sup>,  
M. Martínez Pardo<sup>3,5</sup>, C. Pérez-Cerdá<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Universidad Autónoma de Madrid. <sup>2</sup>Centro de Biología Molecular UAM-CSIC. <sup>3</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER).

<sup>4</sup>Instituto de Investigación Universitario del Hospital La Paz (IDIPAZ). Madrid. <sup>5</sup>Unidad de Metabolopatías. Servicio de Pediatría. Hospital Ramón y Cajal. Madrid

### Introducción

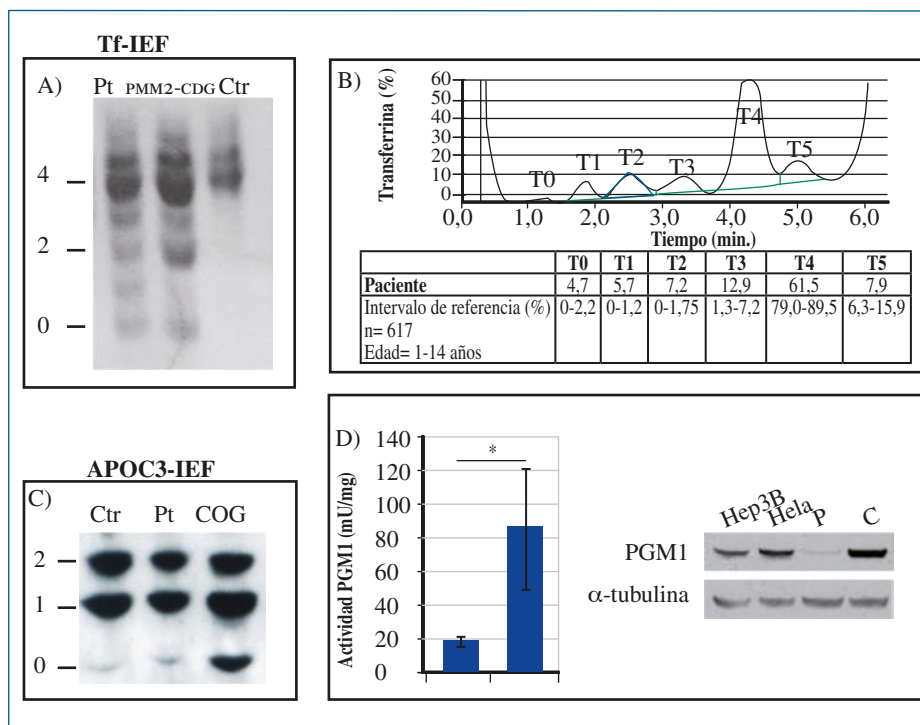
Las glucogenosis (GSD) son un grupo de errores innatos del metabolismo caracterizados por la alteración en la concentración y/o estructura de los depósitos de glucógeno en tejidos, fundamentalmente hepático y muscular. Las glucogenosis musculares primarias son causadas por defectos genéticos de enzimas directamente implicadas en la síntesis de glucógeno (gluconeogénesis), en la degradación de glucógeno (glucogenolisis) o en el metabolismo de la glucosa (glucolisis)<sup>1</sup>. Debido a que durante o tras la actividad física intensa la principal fuente de energía en músculo es la glucolisis anaerobia, los síntomas clínicos principales asociados a estos defectos son intolerancia al ejercicio, calambres, mioglobinuria y debilidad muscular progresiva<sup>2</sup>.

Los defectos congénitos de glicosilación (CDG) son también un gran grupo de enfermedades genéticas muy heterogéneas, debidas a defectos en la síntesis o procesamiento de los glicanos (cadenas de oligosacáridos) que forman parte de las glicoproteínas y otros glicoconjugados. Hasta la fecha hay más de 60 defectos genéticos que afectan a las rutas de N-glicosilación y O-glicosilación<sup>3</sup>, que incluyen defectos en la biosíntesis de los nucleótido-azúcares y de los transportadores de los nucleótido-azúcares, en el metabolismo de los dolicoles, en las glicosidasas y en el transporte vesicular. Una de las enfermedades más frecuentes es la causada por la deficiencia de la enzima fosfomano mutasa (PMM), que cataliza la conversión de manosa-6-fosfato a manosa-1-fosfato<sup>4</sup>. La disminución de la síntesis de manosa-1-fosfato da lugar a una disminución de las reservas intracelulares de GDP-manosa y Dol-manosa, ambas moléculas donadoras de manosa en la síntesis de los N-glicanos. El espectro clínico de los CDG es muy amplio; la mayoría de las enfermedades son multisistémicas y con implicación del sistema nervioso central<sup>5</sup>. El análisis de las isoformas de la transferrina (N-glicoproteína) y de la lipoproteína apoc3 (O-glicoproteína) se utiliza como biomarcadores séricos para la detección de pacientes con un CDG<sup>6</sup>.

En este trabajo describimos un paciente con un defecto en la enzima fosfoglucomutasa (PGM), enfermedad descrita previamente como glucogenosis tipo XIV (GSD XIV, MIM612934), que presenta además un severo defecto en la glicosilación de proteínas.

### Caso clínico

Varón de 13 años y 9 meses remitido a la Unidad de Enfermedades Metabólicas del Hospital Ramón y Cajal de Madrid por aumento persistente de creatina cinasa (CK) en plasma (entre 500 y 1.000 UI/L [N <140]) y de las transaminasas ASAT (GOT) (de 140-250 UI/L [N <45]) y ALAT (GPT) (entre 48 y 150 UI/L [N <45]). El paciente había sido diagnosticado previamente de deficiencia de hormona de crecimiento por talla baja con síndrome del primer arco branquial –siendo tratado con hormona de crecimiento en la infancia– y de deficiencia de IgA sin intolerancia al gluten. En la exploración física no presentaba hepatoesplenomegalia ni cardiomiopatía. El electrocardiograma y el electromiograma eran normales. Tenía un desarrollo psicomotor normal (IQ 102). La exploración neurológica era también normal: no hipertrofia de gemelos, no ataxias, pares craneales normales. El paciente refería cansancio al andar teniendo en ocasiones que descansar parándose. Nunca había tenido hipoglucemia ni acidemia láctica ni hiperamonemia. Se realizó un test de isquemia-ejercicio que reveló un aumento de lactato a los 2 min hasta 1,03 mmol/L sobre un basal de 0,83 mmol/L y un aumento de amonio a los 2 min hasta 389 µmol/L sobre un basal de 10 µmol/L. Estos datos confirmaban una actividad mioadenilato deaminasa normal, mientras que la práctica ausencia de síntesis de lactato en isquemia indicaba una inadecuada utilización del glucógeno muscular. El test de sobrecarga de glucosa i.v. en dosis de 1 g/kg mostró a los 60 min un aumento de 4,1 mmol/L de lactato sobre el basal, con una relación lactato/piruvato normal, sugiriendo una síntesis deficiente de glucógeno hepático desde glucosa. En el estudio de anatomía patológica de una biopsia muscular no se evidenció patología salvo una discreta variabilidad en el tamaño de las fibras con un muy discreto aumento de tinción con la técnica del PAS, siendo las técnicas oxidativas normales, las tinciones de la fosforilasa y de la fosfofructocinasa normales, así como las tinciones con anticuerpos para distrofina, sarcoglicanos, merosina y espectrina. El contenido en glucógeno muscular fue de 62 µg/mg proteína (valor normal 46 ± 21 µg/mg proteína), siendo también normales las actividades miofosforilasa (725 mU/mg proteína; valor control 616 ± 247 mU/mg proteína), amilo-1,6-glicosidasa (0,36 mU/mg proteína; valor control 0,54 ± 0,21 mU/mg proteína) y fosforilasa b cinasa (1.918



**Figura 1. A)** Perfil de transferrina sérica por isoelectroenfoque (IEF) del paciente (Pt) de un caso con PMM-CDG y de un control (Ctr). Se indica el número de ácidos siálicos de la proteína. **B)** Perfil de isoformas de la transferrina sérica del paciente y cuantificación de las mismas por HPLC-Variant. **C)** Perfil de isoformas de la apoc3 sérica por isoelectroenfoque (IEF) del paciente (Pt), de un control (Ctr) y de un paciente con deficiencia de una de las subunidades del complejo oligomérico de Golgi (COG), defecto que da lugar a una O-glicosilación alterada. Se indica el número de ácidos siálicos de la proteína. **D)** Actividad PGM en fibroblastos del paciente (p) y de un control (Ct). Los resultados son la media de tres determinaciones independientes (\*p < 0,005). La cantidad de PGM inmunorreactiva en fibroblastos del paciente (P), el control (C) y otras líneas celulares (Hep3B y HeLa) se mide por densitometría. La  $\alpha$ -tubulina se mide como control de carga

mU/mg proteína; valor control  $1.632 \pm 513$  mU/mg proteína). En la biopsia hepática se objetivaron hepatocitos PAS (–) de aspecto vegetaloides que sugerían glucogenización de éstos.

Otros estudios metabólicos llevados a cabo revelaron normalidad en los aminoácidos en plasma y orina, ácidos orgánicos en orina y niveles de carnitina y acilcarnitinas en sangre. Sin embargo, el %CDT, el biomarcador utilizado para detectar defectos de glicosilación, que mide el porcentaje de la suma de las isoformas hipoglicosiladas de la transferrina (asialo- + monosialo- + disialo-transferrinas) con respecto a la transferrina total en suero, fue muy alto (17,6%; valor control <2,5%). El análisis por isoelectroenfoque de la transferrina sérica del paciente mostró un perfil alterado con aumentos de las isoformas a-, mono-, di- y trisialiladas (figura 1A), que fueron cuantificadas por HPLC-Variant (figura 1B). Sin embargo, el perfil de las isoformas de la apoc3 fue normal (figura 1C), descartándose un defecto combinado de N- glicosilación y O-glicosilación. Para confirmar y profundizar en las bases estructurales de la hipoglicosilación que presentaba el paciente, se analizaron los N-glicanos derivados de las proteínas plasmáticas por MALDI-TOF-MS, encontrándose un aumento significativo de especies truncadas deficientes en ácido siálico y galactosa<sup>7</sup>. Todos estos datos, la insignificante elevación de lactato en plasma tras la prueba de isquemia muscular, la gran elevación del mismo tras la sobrecarga de glucosa y la severa alteración de la N-glicosilación de las proteínas plasmáticas sugerían un defecto en la interconversión de la glucosa-1-fosfato a glucosa-6-fosfato, catalizada por la enzima fosfoglucomutasa (PGM). Esta sospecha se confirmó demostrándose una reducción de actividad PGM en fibroblastos de

piel del paciente cultivados del 80% con respecto al valor control (17 mU/mg proteína; valor control 86 mU/mg proteína) y una muy significativa reducción de proteína PGM1 inmunorreactiva (figura 1D). El análisis de mutaciones del gen *PGM1* reveló la existencia de dos cambios nucleotídicos en heterozigosis no descritos: 1) el c.871G>A, que da lugar al cambio de una glicina por una arginina en la posición 291 (p.Gly291Arg), y 2) el c.1144+3A>T en la secuencia del intrón 7, que da lugar a la eliminación del exón 7. Ninguno de estos cambios se detectó en DNA control, y los estudios funcionales –mediante análisis de expresión en fibroblastos transformados en el caso del cambio c.871G>A o en células COS utilizando minigenes en el caso de la mutación intrónica– demostraron que son causantes de enfermedad<sup>7</sup>.

## Conclusión

Se han descrito varios defectos genéticos en la biosíntesis e interconversión de monosacáridos, unos como CDG primarios, como las deficiencias de fosfomano mutasa (PMM-CDG o CDG1a) y de fosfomano isomerasa (PMI-CDG o CDG1b)<sup>8</sup> y otros como enfermedades que cursan con un defecto de glicosilación secundario, como la galactosemia por deficiencia de la enzima galactosa uridil transferasa (gen *GALT*)<sup>9</sup>, la intolerancia hereditaria a la fructosa (gen *ALDOB*) y la acidosis láctica congénita por defecto de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa (gen *FBP1*)<sup>10</sup>. El mecanismo por el cual los dos defectos que afectan al metabolismo de la fructosa producen una deficiencia en la glicosilación de proteínas podría ser explicado por inhibición



de la actividad fosfomano mutasa por acumulación de fructosa-1-fosfato<sup>11</sup>. En el caso de la galactosemia, Lai et al.<sup>12</sup> demostraron, en células de pacientes, que el aumento de galactosa-1-fosfato compite con la glucosa-1-fosfato y la N-acetilglucosamina-1-fosfato como sustratos de las pirofosforilasas UTP-dependientes en la síntesis de las correspondientes UDP-hexosas; estas últimas son donadoras de azúcares en las rutas de glicosilación, produciéndose una reducción intracelular de las mismas y una inhibición en la glicosilación de glicoproteínas. Éste podría ser el mecanismo por el cual el paciente descrito en este trabajo, con un defecto en la vía gluconeogénica que afecta a los niveles intracelulares de glucosa-1-fosfato, defecto descrito hace unos años como una glucogenosis muscular<sup>13</sup>, presenta simultáneamente un defecto en la glicosilación de proteínas puesto de manifiesto por el hallazgo de una transferrina deficientemente glicosilada así como por unos N-glicanos derivados de las glicoproteínas séricas hipoglicosilados. Las manifestaciones clínicas relativamente leves del paciente, sin implicación del sistema nervioso central, probablemente son debidas a la alta actividad PGM residual que presenta.

Defectos genéticos en genes que codifican enzimas implicadas en rutas metabólicas de utilización de la glucosa podrían manifestarse como glucogenosis junto con síntomas clínicos y metabólicos compatibles con un defecto congénito de glicosilación, como el descrito en este trabajo.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por las ayudas del Ministerio de Ciencia e Innovación PI10/00455 a BP y PI11/01254 a CPC. Los autores también desean agradecer el trabajo de María Teresa Alonso, del Servicio Interdepartamental de Investigación (SIDI) de la UAM por el análisis de los glicanos por espectrometría de masas-MALDI-TOF.

## Bibliografía

1. Moreno Villares JM, Oliveros Leal L. Enfermedades por almacenamiento de glucógeno y trastornos relacionados. En: Sanjurjo P, Balledou A, eds. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias, 3.ª edición. Madrid: Ergon, 2010; 377-398.
2. Gazzero E, Andreu AL, Bruno C. Neuromuscular disorders of glycogen metabolism. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2013; 13(3): 333.
3. Hennet T. Diseases of glycosylation beyond classical congenital disorders of glycosylation. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1.820(9): 1.306-1.317.
4. Van Schaftingen E, Jaeken J. Phosphomannomutase deficiency is a cause of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *FEBS Lett.* 1995; 377(3): 318-320.
5. Lefeber DJ, Morava E, Jaeken J. How to find and diagnose a CDG due to defective N-glycosylation. *J Inherit Metab Dis.* 2011; 34(4): 849-852.
6. Pérez-Cerdá C, Quelhas D, Vega AI, Ecay J, Vilarinho L, Ugarte M. Screening using serum percentage of carbohydrate-deficient transferrin for congenital disorders of glycosylation in children with suspected metabolic disease. *Clin Chem.* 2008; 54(1): 93-100.
7. Pérez B, Medrano C, Ecay MJ, Ruiz-Sala P, Martínez-Pardo M, Ugarte M, et al. A novel congenital disorder of glycosylation type without central nervous system involvement caused by mutations in the phosphoglucomutase 1 gene. *J Inherit Metab Dis.* 2013; 36(3): 535-542.
8. Pérez-Cerdá C, Ugarte M. Defectos congénitos de la glicosilación. Diagnóstico y tratamiento. *Rev Neurol.* 2006; 43 supl 1: S145-S156.
9. Sturiale L, Barone R, Fiumara A, Pérez M, Zaffanello M, Sorge G, et al. Hypoglycosylation with increased fucosylation and branching of serum transferrin N-glycans in untreated galactosemia. *Glycobiology.* 2005; 15(12): 1.268-1.276.
10. Quintana E, Sturiale L, Montero R, Andrade F, Fernández C, Couce ML, et al. Secondary disorders of glycosylation in inborn errors of fructose metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 2009; 32(Suppl 1): S273-S278.
11. Jaeken J, Pirard M, Adamowicz M, Pronicka E, van Schaftingen E. Inhibition of phosphomannose isomerase by fructose-1-phosphate: an explanation for defective N-glycosylation in hereditary fructose intolerance. *Pediatr Res.* 1996; 40(5): 764-766.
12. Lai K, Langley SD, Khwaja FW, Schmitt EW, Elsas LJ. GALT deficiency causes UDP-hexose deficit in human galactosemic cells. *Glycobiology.* 2003; 13(4): 285-294.
13. Stojkovic T, Vissing J, Petit F, Piraud M, Orngreen MC, Andersen G, et al. Muscle glycogenosis due to phosphoglucomutase 1 deficiency. *N Engl J Med.* 2009; 361(4): 425-427.

# *Paneles génicos basados en la tecnología de secuenciación masiva como herramienta de apoyo al diagnóstico clínico*

Ponentes: *Dr. Luis González Gutiérrez-Solana, Dra. Ana F. Marmiesse*

Moderadora: *Dra. Judith Armstrong Moron*

## Introducción

J. Armstrong

*Hospital Sant Joan de Déu. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de Enfermedades Minoritarias.  
Genética Bioquímica & Síndrome de Rett. Barcelona*

El diagnóstico de enfermedades minoritarias es una tarea compleja, que requiere la participación y la coordinación de distintas disciplinas médicas para dar con un diagnóstico definitivo y certero. Cada vez más se han ido describiendo enfermedades (minoritarias o no) de origen genético, dando lugar a un diagnóstico genético.

El diagnóstico genético es una herramienta médica que permite determinar las causas genéticas de una enfermedad. Las enfermedades tienen unas características clínicas que las determinan como tal, diferenciándolas de otras. Muchas tienen una base genética, es decir, se deben a una mutación en un gen determinado. Detectar qué gen y qué mutaciones en el ADN presentan los pacientes con enfermedades genéticas es lo que denominamos un «diagnóstico genético».

Las técnicas genéticas están evolucionando y mejorando de manera exponencial. En cuestión de 2-3 años se han desarrollado técnicas de detección de mutaciones a partir de secuenciación masiva (*new generation sequencing* [NGS]). Inicialmente, esta secuenciación se realizaba en todo el ADN (*high-throughput sequencing*); poco tiempo después se podía realizar sólo en las regiones que contenían exones y, por tanto, en la región codificante de genes (exoma), o en las regiones que dan lugar a proteínas en un tejido determinado (transcriptoma, secuenciación de los transcritos).

Estas técnicas han avanzado tanto, que ha quedado desplazada su interpretación, ya que se están detectando muchas variantes genéticas sin saber si hay o no una repercusión fenotípica.

Clínicamente, esta opción de NGS se puede usar a partir de paneles dirigidos, paneles génicos que contienen genes conocidos relacionados con la enfermedad concreta (p. ej., genes relacionados con el síndrome de Rett o con el cribado precoz neonatal). Un panel génico es una herramienta que nos permite detectar mutaciones en muchos genes a la vez (70-80 genes distintos), disminuyendo el tiempo de respuesta y el coste por paciente. Hay enfermedades debidas a un único gen y otras debidas a varios genes. Por ejemplo, en los genes relacionados con enfermedades mitocondriales podemos estudiar todos los conocidos implicados en la cadena respiratoria mitocondrial de una sola vez. Hasta ahora se estudiaba un gen, después otro, y así sucesivamente, hasta detectar (o no) la causa genética de una enfermedad. Con los paneles génicos se disminuye el tiempo de respuesta en el diagnóstico genético, mejorando el diagnóstico precoz de las enfermedades.

## Panel génico frente a exoma

En el panel génico se estudian los genes elegidos, que ya sabemos que si están mutados pueden causar una u otra enfermedad. El estudio del exoma nos permite saber qué mutaciones se detectan en todo el genoma, en todos los genes que tenemos, independientemente de si están relacionados con la enfermedad o no. El estudio del exoma es sumamente interesante cuando no se conoce el gen que causa una enfermedad, ya sea porque se han estudiado todos los genes co-

nocidos y no se ha detectado ninguna mutación, o porque se trata de una presentación clínica nueva. Pero en la práctica hospitalaria habitual resulta demasiado costoso y de difícil interpretación.

El panel génico nos permite estudiar muchos genes a la vez, y en la mayoría de los casos se detecta una mutación causante de la enfermedad que padece el paciente. En los casos en que no se detecta ninguna mutación, es aconsejable el estudio del exoma para determinar qué gen está mutado en el paciente.

Al igual que en la secuenciación convencional, cuando se detecta una mutación en el paciente, debe estudiarse a sus progenitores y hermanos/as para determinar su herencia y poder ofrecer un consejo genético, así como realizar un diagnóstico prenatal en futuros embarazos. Siempre que sea posible, es necesario realizar una comprobación de los resultados de los estudios genéticos, ya sea de tipo funcional (bioquímica, proteica, enzimática...), con apoyo de neuroimagen, etc. Para ello, es totalmente necesaria una coordinación entre las distintas disciplinas diagnósticas. Para la interpretación de los resultados de los paneles génicos es indispensable una buena

descripción clínica y tener bien definidos los rasgos clínicos característicos de los pacientes estudiados.

Saber qué gen está mutado en cada paciente confirma clínicamente el diagnóstico realizado por el médico. Pero cada vez más –y se cree que en un futuro no muy lejano será claramente así–, los fármacos utilizados para tratar ciertas enfermedades van a ir relacionados con el gen mutado y el tipo de mutación, así como con la presentación clínica del paciente.

Disponer de un diagnóstico genético lo más precoz posible que confirme el diagnóstico clínico permitirá abordar la enfermedad con mucha más información, anticipando presentaciones clínicas mediante estimulación precoz o medicación preventiva, realizar un seguimiento del paciente acorde con el tipo de enfermedad... (p. ej., un determinado tipo de mutación puede cursar siempre con una aparición de crisis epilépticas en los primeros 5 años de la enfermedad, así que los controles médicos pueden estar más dirigidos a detectar esta crisis, o preventivos para que no aparezcan, o seguidos en el tiempo para detectar qué tipo de crisis está apareciendo y con qué frecuencia).

Documentos para consultar: <http://www.guiametabolica.org>

## Paneles génicos basados en tecnología de secuenciación masiva como herramienta de apoyo al diagnóstico clínico

L. González Gutiérrez-Solana

*Servicio de Neuropediatría. Hospital Niño Jesús. Madrid*

### La complejidad de la medicina

Hay distintos aspectos que explican la actual complejidad de la medicina. Entre ellos, los siguientes:

1. Una misma enfermedad produce distintos fenotipos. Así, por ejemplo, hay formas leves y graves en las mucopolisacaridos (MPS); formas infantiles juveniles y del adulto en las gangliosidosis GM1 y GM2; distintos subtipos con características diferentes en la enfermedad de Gaucher, o distintas presentaciones, según la edad de inicio de sus manifestaciones neurológicas, en la enfermedad de Niemann-Pick tipo C. Además, para su estudio clínico, se proponen clasificaciones que, muchas veces, son artificiosas. Así, por ejemplo, la MPS tipo I se divide en una forma grave, o Hurler, una forma intermedia, o Hurler-Scheie, y una leve, o Scheie; pero, en realidad, hay un espectro continuo de manifestaciones clínicas desde las formas más graves a las más leves.
2. Un mismo fenotipo puede ser producido por distintas enfermedades. Por ejemplo, el fenotipo Hurler puede observarse en todas las MPS, pero además en la oligosacaridosis, la mucopolisidosis e incluso en la gangliosidosis GM1 precoz. La paraplejía progresiva o la leucodistrofia con macrocefalia también pueden deberse a distintas patologías. Algunas claves diagnósticas para el estudio de las enfermedades neurodegenerativas son la edad, la evolución, los resultados de la resonancia magnética cerebral y las parámetros de laboratorio.
3. A medida que avanzamos en el conocimiento de estas enfermedades y son más accesibles ciertas pruebas diagnósticas (como los estudios genéticos), se va describiendo un mayor número de variantes clínicas o formas atípicas de presentación. Así, por ejemplo, la variante hipotónica de enfermedad de Krabbe, las enfermedades mitocondriales con presentaciones que simulan determinadas enfermedades lisosomales (leucodistrofia meta-

**TABLA 1. Algunos fenotipos sindrómicos susceptibles de ser estudiados por técnicas de secuenciación masiva**

- Encefalopatías epilépticas de comienzo precoz
- Fenotipo Hurler (lisosomales)
- Afectación de múltiples sistemas (esfingolipidosis tardías)
- Espectro Zellweger (peroxisomales)
- Biopsia de piel que sugiere una ceroidolipofuscinosis
- Defectos congénitos de glucosilación
- LD sin patrón específico
- Encefalomiopatías mitocondriales
- Distrofias de cinturas y miopatías congénitas
- Miopatías metabólicas
- Distonías de causa desconocida
- Retraso mental ligado al cromosoma X
- Hiperlaxitud
- Defectos congénitos del sistema nervioso central

cromática o Krabbe) o ciertas leucodistrofias (sustancia blanca evanescente).

En muchas ocasiones, el clínico es capaz de determinar un diagnóstico sindrómico o un fenotipo genérico, pero no consigue precisar un diagnóstico molecular necesario para un fiable consejo familiar, transmitir un pronóstico e, incluso en algunos casos, orientar el tratamiento (SCN1A, déficit de GLUT1, deficiencia de folato cerebral, déficit de PDH, déficit de CoQ) y evitar pruebas innecesarias. El uso de nuevas tecnologías, como la secuenciación masiva, comienza a aportar una respuesta a muchos de estos pacientes (tabla 1).

Por otra parte, la expansión de las pruebas genéticas ha ampliado el fenotipo relacionado con muchas enfermedades genéticas. Así, en las encefalopatías epilépticas de origen precoz (EEOP), de curso muchas veces devastador, la asignación inicial de un determinado defecto genético a un determinado fenotipo ha sido superada con el tiempo. Veamos algunos ejemplos:

- STXBP1, inicialmente relacionado con el síndrome de Ohtahara. Al menos un 10% de las EEOP sin característi-

cas de Ohtahara ni de síndrome de West y algún síndrome de West atípico se deben a mutaciones en este gen<sup>1</sup>.

- CDKL5, relacionado con el síndrome de Rett precoz. Más de un 10-15% de las mujeres con espasmos infantiles de comienzo precoz y de los varones con crisis precoces presentan defectos de este gen<sup>2</sup>.
- SCN1A, principal causa del síndrome de Dravet. También se ha asociado a crisis febriles, crisis focales, migraña hemipléjica familiar y autismo relacionado con crisis<sup>3</sup>.
- KCNQ2, descrito como causa de crisis neonatales familiares benignas. Se ha observado también en algunos pacientes con síndrome de Ohtahara<sup>4</sup>.

## Conclusión

La complejidad de la medicina expresada por las variantes de una misma enfermedad, la amplitud de los diagnósticos posibles ante un síndrome o fenotipo, las variantes atípicas de las enfermedades conocidas y la creciente extensión de los fenotipos relacionados con algunos genes hacen necesario contar con instrumentos de diagnóstico más potentes, como los paneles de secuenciación masiva.

Es probable que con ellos podamos llegar a establecer más diagnósticos, lo que permitirá un mejor consejo familiar, un pronóstico más seguro, realizar menos pruebas diagnósticas ante un enfermo con una patología no determinada y, en algún caso, llevar a cabo tratamientos más específicos.

## Bibliografía

1. Deprez L, Weckhuysen S, Holmgren P, Suls A, Van Dyck T, Goossens D, et al. Clinical spectrum of early-onset epileptic encephalopathies associated with STXBP1 mutations. *Neurology*. 2010; 75(13): 1.159-1.165.
2. Elia M, Falco M, Ferri R, Spalletta A, Bottitta M, Calabrese G, et al. CDKL5 mutations in boys with severe encephalopathy and early-onset intractable epilepsy. *Neurology*. 2008; 71(13): 997-999.
3. Frosk P, Mhanni AA, Rafay MF. SCN1A mutation associated with intractable myoclonic epilepsy and migraine headache. *J Child Neurol*. 2013; 28(3): 389-391.
4. Kato M, Yamagata T, Kubota M, Arai H, Yamashita S, Nakagawa T, et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia*. 2013; 54(7): 1.282-1.287.

# Defectos congénitos de la absorción y el metabolismo de la cobalamina

Ponentes: *Prof. Dr. Jörn Oliver Sass, Dra. Belén Pérez Dueñas*

Moderadora: *Dra. M.<sup>a</sup> Concepción García Jiménez*

## Inborn Errors of Cobalamin Absorption, Transport and Metabolism

J.O. Sass<sup>1</sup>, M.R. Baumgartner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitäts-Kinderspital Zürich. Klinische Chemie & Biochemie. <sup>2</sup>Universitäts-Kinderspital Zürich. Stoffwechsel. Zürich

Cobalamin (Cbl, vitamin B<sub>12</sub>) is a cobalt-containing vitamin which is synthesized by bacteria and archaea. It can be taken up from food of animal origin, but not from higher plants.

Various cobalamins differ in the residue R in the upper axial position of the molecule. In adenosylcobalamin (AdoCbl) R is a 5'-deoxyadenosyl moiety, in methylcobalamin (MeCbl) a methyl group. Common vitamin B<sub>12</sub> supplements contain hydroxocobalamin (OHCbl, labelled "the natural form of the vitamin", with R = OH) or cyanocobalamin (CNCbl, with R = CN). CNCbl does not occur naturally, but is formed during the isolation of bacterial cobalamin (Watkins & Rosenblatt, 2011a). Nominations such as cblA-cblG and cblJ do not refer to special forms of cobalamin, but to enzymes and transport proteins involved in intracellular cobalamin metabolism. Each of those designations refers to a different complementation group and to a defect in cobalamin metabolism caused by mutations in the gene identified for this particular complementation group (Fowler et al., 2008).

### Vitamin B<sub>12</sub> in the human body

Vitamin B<sub>12</sub> is required as a cofactor of two reactions (Watkins & Rosenblatt, 2011a+b): AdoCbl serves as a cofactor of L-methylmalonyl-coenzyme A (L-methylmalonyl-coA) mutase, which converts L-methylmalonyl-coA to succinyl-coA. Impaired function of this enzyme results in elevated concentrations of methylmalonic acid in body fluids. MeCbl acts as cofactor of methionine synthase, which methylates homocysteine to methionine and converts 5-methyltetrahydrofolate to tetrahydrofolate. Protein-bound Cbl from food is released in the stomach and bound to hap-

tocorin. Following proteolytic digest of haptocorin, in the upper small intestine Cbl binds to intrinsic factor (IF) which has been released from gastric parietal cells. The proteins cubillin and amnionless are involved in the uptake of the cobalamin-IF complex into ileal cells. Subsequently, most of the Cbl is transported in blood bound to haptocorin, while only a small proportion is bound to transcobalamin (TC). However, most cells of the body take up Cbl of the latter fraction only (Stabler 2013). The CD320 gene encodes the transcobalamin cell surface receptor that recognizes TC bound Cbl (Quadros et al. 2009). CblC and cblD are involved in the formation of both AdoCbl and MeCbl. In contrast, cblA and cblB participate in formation of AdoCbl only, the cofactor of L-methylmalonyl-coA mutase, while cblE and cblG contribute to methionine synthase activity (Watkins & Rosenblatt 2011b).

### Inborn Errors of Cobalamin Absorption, Transport and Metabolism

An overview on inherited disorders affecting Cbl utilization in the human is given in Table 1, which also displays laboratory findings that may be helpful in diagnosing Cbl disorders. It is important to note that, while unexplained megaloblastic anemia should prompt a diagnostic work-up towards a Cbl disorder or dietary Cbl deficiency, abnormalities in the full blood count are not necessarily present. Usually plasma homocysteine and methylmalonic acid are more sensitive biomarkers than megaloblastic anemia.

Several defects affecting the utilization of Cbl present with neurological features, including developmental delay or regression. Failure to thrive and hypotonia/muscular



**TABLE 1. INBORN ERRORS OF METABOLISM RELATED TO COBALAMIN ABSORPTION, TRANSPORT AND METABOLISM**

Disorder	MIM no.	Gene	Serum Cobalamin	Plasma Homocysteine	Plasma Methionine	Plasma/urine MMA
Intrinsic factor deficiency	261000	GIF	↓	↑	N - ↓	↑
Imerslund-Gräsbeck syndrome	261100	AMN, CUBN, ?	↓	↑	N - ↓	↑
Transcobalamin deficiency	275350	TCN2	N (- ↓)	N-↑	N - ↓	N-↑
Transcobalamin receptor deficiency	613646	CD320	N	N-↑	N?	↑
Haptocorrin deficiency	193090	TCN1	N - ↓	N	N	N
cblA deficiency	251100	MMAA	N	N	N	↑
cblB deficiency	251110	MMAB	N	N	N	↑
cblC deficiency	277400	MMACHC	N	↑	N - ↓	↑
cblD deficiency	277410	MMADHC	N	Classical: ↑ Variant 1: ↑ Variant 2: N	N - ↓ N - ↓ N	↑ N ↑
cblE deficiency	236270	MTRR	N	↑	N - ↓	N
cblF deficiency	277380	LMBRD1	N	↑	N - ↓	↑
cblG deficiency	250940	MTR	N	↑	N - ↓	N
cblJ deficiency	614857	ABCD4	N	↑	N - ↓	↑
Methylmalonyl CoA mutase deficiency	251000	MUT	N	N	N	↑

N = normal; MMA = methylmalonic acid.

weakness are also common. However, the group of inborn errors of cobalamin absorption, transport and metabolism comprises also biochemical defects that are of questionable, yet unclear, clinical relevance.

Inherited IF deficiency (due to absent or defective IF in gastric secretions, but not to atrophy of gastric parietal cells and not to antibodies against IF as in classical pernicious anemia) and Imerslund-Gräsbeck syndrome (mostly ascribed to defects in components of the cubam receptor involved in intestinal absorption of dietary cobalamin) typically present in childhood with developmental delay and megaloblastic anemia (Watkins & Rosenblatt 2011a+b; Stabler 2013). If untreated, they will result in neurological symptoms and possibly death. TC deficiency may present early in infancy with features including failure to thrive and may result in neurological and immunological problems. In contrast, the clinical relevance of haptocorrin deficiency and TC receptor deficiency is not clear. The latter disorder has been identified in some individuals following the diagnostic work-up of newborn screening results suggestive for methylmalonic acidemia (Quadros et al. 2010). Several of the children with cblF or cblJ disorders have also been identified following positive newborn screening results (Rutsch et al. 2009; Coelho et al. 2012). Besides blood count abnormalities, feeding difficulties, unusual facial appearance and congenital heart defects have been reported in these diseases.

CblC disease is the most common inborn error of Cbl metabolism (Watkins & Rosenblatt 2011b). Patients mostly come to medical attention during the first year of life with failure to thrive, feeding difficulties and developmental de-

lay. Neurological features can be prominent (e.g., hypotonia, EEG anomalies and seizures, cerebral atrophy, hydrocephalus, white matter disease, retinopathy). Hemolytic uremic syndrome and structural heart defects have been noted. In diseases such as cblC deficiency, where methylmalonic acidemia is combined with hyperhomocysteinemia, treatment with OHCbl (or CNCbl) is often combined with administration of betaine and folic acid, which may contribute to lowering homocysteine levels (Huemer et al., 2005).

CblD disease is much less frequent and may occur in one of three biochemical phenotypes (Coelho et al 2008; Stucki et al. 2012). Its classic presentation, with decreased synthesis of AdoCbl and MeCbl, elevated methylmalonic acid and homocysteine, resembles that of cblC disease. Variant 1, clinically resembling cblE and cblG disorders (see below), is due to mutations in the *MMADHC* gene which affect the C-terminal domain of the encoded protein and result in decreased synthesis of MeCbl, thus yielding homocysteinemia only. Variant 2, clinically resembling cblA and cblB disorders (see below), is due to truncating mutations in the N-terminal domain that lead to reinitiation of translation at a downstream start codon and decreased synthesis of AdoCbl only, thus resulting in methylmalonic acidemia.

Methylmalonic acidemia/ aciduria is also the key abnormality in cblA and cblB disorders where impaired synthesis of AdoCbl results in decreased activity of methylmalonyl CoA mutase (Watkins & Rosenblatt 2011a+b). CblA and cblB disorders mostly present during the first year of life, but later onset is also known. Metabolic crises may be life-threatening and long-term complications include basal ganglia infarcts and end

stage renal failure. Treatment usually comprises protein restriction in addition to administration of OHCbl or CNCbl and L-carnitine. This can be combined with antibiotic treatment to reduce production of propionate by gut bacteria.

Methylmalonyl-CoA mutase deficiency represents not a disorder in Cbl metabolism, but a defect of the methylmalonyl-CoA mutase apoenzyme itself, which can be subdivided in two subgroups (Watkins & Rosenblatt 2011a). Differentiation of these groups is based on the presence (mut<sup>+</sup>) or absence (mut<sup>-</sup>) of residual enzyme activity in cultured fibroblasts and response to vitamin B<sub>12</sub> in vitro and in vivo. Presentation and treatment resemble very much that of cblA and cblB disorders. However, only in the mut<sup>+</sup> class supplementation with OHCbl may help.

CblE disease and cblG disease are inherited defects of methionine synthase reductase and methionine synthase, respectively. They mostly manifest during the first two years of life with megaloblastic anemia and a variety of neurological features.

In most of the diseases listed above, administration of parenteral or oral OHCbl or CNCbl is a mainstay of therapy. Intracellular defects of Cbl metabolism usually require parenteral treatment with cobalamin. OHCbl is preferred since it should be convertible to both AdoCbl and MeCbl in all defects.

## Acquired Impairment of Cobalamin Pathways

All disorders listed above appear to follow autosomal recessive traits of inheritance. However, Cbl deficiency can also result from a vegan diet or (subclinical) autoimmune atrophic gastritis. Those conditions do not necessarily apply to the patient himself, but may affect a child during pregnancy and breast-feeding in a vitamin B<sub>12</sub> deficient mother who does not have to be clinically symptomatic herself at that time (Lücke et al. 2007; Stabler 2013). In such a setting a child may lose developmental milestones during the second half of the first year of life and present with failure to thrive and loss of attention, often also with brain atrophy detectable by MRT. Cbl concentration in serum usually is low (if age-adapted reference ranges are used) and anemia (not always megaloblastic due to simultaneous iron deficiency) may be present, and plasma homocysteine and methylmalonic acid levels are elevated.

Notably, there are also conditions which are associated with elevated serum Cbl levels (Andrès et al. 2013). Those are mostly due to abnormal concentrations or Cbl-binding characteristics of TC and comprise solid neoplasms, liver metastases, liver and kidney diseases and myeloproliferative blood disorders.

## Conclusion

As in many other inborn errors of metabolism, early and accurate diagnosis of disorders of Cbl absorption, transport and metabolism is important for an early start of treatment and for preventing irreversible damage. Widely available laboratory parameters such as homocysteine and methylmalonic acid can be helpful in this regard. Complementation studies/ functional tests and mutation analyses can subsequently be applied for further characterization and confirmation. In view of the space limitations, this article cannot be much more than a teaser on interesting aspects on Cbl disorders. For a more comprehensive review, Watkins and Rosenblatt 2011 a+b are recommended.

## References

- Andrès E, Serraj K, Zhu J, Vermorken AJM. The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. *Q J Med.* 2013; 106(6): 505-515.
- Coelho D, Kim JC, Miousse IR, Fung S, du Moulin M, Buers I, et al. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B12 metabolism. *Nat Genet.* 2012; 44(10): 1.152-1.155.
- Coelho D, Suormala T, Stucki M, Lerner-Ellis JP, Rosenblatt DS, Newbold RF, et al. Gene identification for the cblD defect of vitamin B<sub>12</sub> metabolism. *N Engl J Med.* 2008; 358(14): 1.454-1.464.
- Fowler B, Leonard JV, Baumgartner MR. Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias. *J Inher Metab Dis.* 2008; 31(3): 350-360.
- Huemer M, Simma B, Fowler B, Suormala T, Bodamer OA, Sass JO. Prenatal and postnatal treatment in cobalamin C defect. *J Pediatr.* 2005; 147(6): 469-472.
- Lücke T, Korenke GC, Poggenburg I, Bentele KH, Das AM, Hartmann H. Maternal vitamin B<sub>12</sub> deficiency: cause for neurological symptoms in infancy. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2007; 211(14): 157-161.
- Quadros E V, Nakayama Y, Sequeira JM. The protein and the gene encoding the receptor for the cellular uptake of transcobalamin-bound cobalamin. *Blood.* 2009; 113(3): 186-192.
- Quadros EV, Lai SC, Nakayama Y, Sequeira JM, Hannibal L, Wang S, et al. Positive newborn screen for methylmalonic aciduria identifies the first mutation in TCblR/CD320, the gene for cellular uptake of transcobalamin-bound vitamin B12. *Hum Mutat.* 2010; 31(8): 924-929.
- Rutsch F, Gailus S, Miousse IR, Suormala T, Sagné C, Toliat MR, et al. Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the cblF defect of vitamin B12 metabolism. *Nat Genet.* 2009; 41(2): 234-239.
- Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med.* 2013; 368(2): 149-160.
- Stucki M, Coelho D, Suormala T, Burda P, Fowler B, Baumgartner MR. Molecular mechanisms leading to three different phenotypes in the cblD defect of intracellular cobalamin metabolism. *Hum Mol Genet.* 2012; 21(6): 1.410-1.408.
- Watkins D, Rosenblatt DS. Inherited disorders of folate and cobalamin transport and metabolism. 2001a; part 17, chapter 155, in: *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease.* <http://dx.doi.org/10.1036/ommbid.187> (last update: August 2011)
- Watkins D, Rosenblatt DS. Inborn errors of cobalamin absorption and metabolism. *Am J Med Genet Part C.* 2011b; 157(3): 33-44.

## WORKSHOP

# Manejo nutricional de errores innatos del metabolismo

Ponentes: *Dr. Luis Peña Quintana, Dr. Isidro Vitoria Miñana*

Moderador: *Dr. Jaime Dalmau Serra*

## Deficiencias de la betaoxidación mitocondrial de los ácidos grasos

L. Peña Quintana

*Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica. Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*

Los errores innatos del metabolismo de la betaoxidación de los ácidos grasos constituyen un grupo de enfermedades en el que se incluyen diferentes tipos y subtipos, que son de base genética y se heredan con carácter autosómico recesivo.

Los ácidos grasos (AG) representan una importante fuente de energía, sobre todo en ayuno y en otras situaciones conocidas médicamente con el término de «estrés metabólico», como son el ejercicio prolongado, las infecciones, la fiebre y la exposición al frío, entre otras. En estas circunstancias, el organismo comienza a obtener la energía a partir de la glucosa, que a su vez proviene del glucógeno, que es su forma de almacenamiento. Si la situación se mantiene, se consumen los depósitos de glucógeno y, para seguir obteniendo energía, se movilizan los AG depositados en el tejido adiposo, para su utilización en un proceso metabólico conocido como betaoxidación (OAG), que ocurre en la mitocondria para los de 20 carbonos de longitud o menos, y preferentemente en los peroxisomas para los mayores de esta longitud. Más de 25 enzimas y transportadores están implicados en esta vía. El producto final de la OAG es el acetyl-CoA, que puede ser utilizado para la síntesis de cuerpos cetónicos o, a través del ciclo de Krebs, para formar CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O.

El corazón, el músculo esquelético y el hígado son particularmente dependientes de esta vía, y secundariamente el cerebro, ya que en periodos de ayuno prolongado usa como principal fuente de energía los cuerpos cetónicos formados a partir de la OAG en el hígado. Por este motivo, característicamente los casos de trastornos de OAG en periodos de descompensación metabólica presentan miopatía cardíaca o esquelética, así como afectación hepática.

### Tratamiento

Podemos diferenciar las medidas terapéuticas para el manejo clínico de estas entidades en dietéticas, farmacológicas, sintomáticas, medidas domiciliarias y de urgencia hospitalaria<sup>1</sup>.

### Tratamiento dietético

La base del tratamiento dietético consiste en prevenir los periodos de ayuno y asegurar las calorías suficientes durante los periodos de estrés metabólico, para no requerir, en lo posible, el uso de AG, como el fuel<sup>2</sup>.

Para prevenir los periodos de ayuno, deben proporcionarse hidratos de carbono de absorción lenta con el fin de mantener unos niveles en sangre de normoglucemia<sup>3</sup>:

- Comidas frecuentes durante el día, que aseguren un aporte constante de glucosa. El tiempo óptimo entre comidas no está bien establecido y puede variar de forma individual en función de la edad, el peso, el crecimiento y el déficit enzimático.
- En los niños menores de 1 año de edad, las comidas deben realizarse cada 3-4 horas.
- En los niños mayores de esta edad, las comidas pueden realizarse cada 4-5 horas, y nunca superar las 8 horas de ayuno<sup>4</sup>.
- Es aconsejable realizar una comida a medianoche. Se puede usar almidón de maíz crudo (maicena) a partir de los 8 meses de edad<sup>5,6</sup>. Se comienza con 1-1,5 g/kg, y puede incrementarse la pauta gradualmente hasta los 1,75-2 g/kg a los 2 años de edad.
- Se pueden emplear otros hidratos de carbono en lugar de maicena.



- En los casos graves, se debe plantear la nutrición enteral a débito continuo nocturna a través de una sonda nasogástrica o gastrostomía.
- No omitir nunca el desayuno.

El tratamiento dietético se completa con una restricción del aporte graso y un incremento de los hidratos de carbono<sup>7,8</sup>. La restricción grasa cuantitativa parece ser una medida adecuada, aunque su grado no se ha precisado de forma consensuada y si ésta es necesaria en todas las variantes<sup>9</sup>. El tratamiento dietético se basará en dos supuestos:

*En los déficit de ácidos grasos de cadena larga (CPT-I, CPT-II, CACT, VLCAD, LCHAD/MTP)*

- Evitar el ayuno (medida principal) (almidón de maíz crudo o hidratos de carbono a media noche, nutrición enteral nocturna).
- Restricción de LCT al 10% de la energía total.
- Suplementación con MCT (2-3 g/kg/día en el primer año de vida; 1-1,25 g/kg/día en los mayores de 1 año) o 10-20% de la energía total.
- Se ha sugerido la suplementación con aceite de cadena impar, principalmente de 7 (heptanoato) carbonos de longitud para la afectación muscular y cardíaca en VLCAD, con muy buenos resultados<sup>10</sup>. Sin embargo, no parece ser mejor que el MCT habitual de cadena par en otros defectos de cadena larga<sup>11</sup>. Se precisan más estudios para confirmar estos resultados.
- Aporte de ácido linoleico y alfa-linolénico, respectivamente, del 3-4 y el 0,5-1% del total calórico, con una relación 5/1-10/1.
- Total MCT + LCT= 20-30% de la energía total.
- Aceite de soja como fuente de precursores de AG esenciales.
- En pacientes con trastornos del complejo MTP, incluyendo LCHAD, aporte de DHA en dosis de 65 mg/día en los niños con un peso inferior a 20 kg, y de 130 mg/día en los niños con un peso superior a 20 kg<sup>4,12,13</sup>. Otros grupos no aconsejan su uso sistemático, aunque recomiendan añadir aceite de nuez a la dieta<sup>14</sup>.
- Para el manejo dietético de los LCHAD y VLCAD durante la época de la lactancia, existen preparados comerciales de 2 tipos:
  1. Completos:
    - Monogen® (Nutricia Metabolics): lípidos (23,6% del total calórico) con reducción de los AG de cadena larga y muy larga (20%), y elevado componente de MCT (80%).
    - Lipistar® (VitaFlo): un 41,2% de las calorías totales proviene de los lípidos (80,1% de MCT, 18,4% de LCT, 0,48% de DHA y 0,97% de AA).
  2. Modulares (Mezcla Libre de grasa SHS® de Nutricia Metabolics, Basic-f® de Milupa y ProViMin® de Ross, estas dos últimas no disponibles en España): son preparados prácticamente exentos de grasa (0,5, 0,8 y 1,4 g por 100 g, respectivamente, siendo el MCT el componente exclusivo de este último).

- Los pacientes con dolor o debilidad muscular inducidos por el ejercicio se benefician del aporte de MCT (o hidratos de carbono) 20 minutos antes de la realización del mismo en dosis de 0,25-0,5 g MCT/kg<sup>4,15</sup>. Deben realizar periodos de descanso y rehidratación si los entrenamientos son largos<sup>12</sup>.
- Monitorización de los niveles plasmáticos de AG esenciales y vitaminas liposolubles, por el riesgo de déficit. Puede existir un déficit bioquímico sin manifestaciones clínicas.

*En los déficit de ácidos grasos de cadena media y corta*

- Mantener comidas regulares, evitando ayunos prolongados, sobre todo en los primeros 6 meses de vida<sup>12</sup>.
- Cuando la edad lo permita, hay que introducir alimentos que contengan azúcares de lenta absorción<sup>16</sup>.
- No se aconseja realizar modificaciones dietéticas (excepto durante las agudizaciones), manteniendo un aporte lipídico normal (un 30-35% de las calorías)<sup>16</sup>.
- El MCT está contraindicado en los trastornos de cadena media y corta, y en la deficiencia múltiple de deshidrogenadas (MAD). Se pueden usar dietas modulares sin MCT (Basic-f® de Milupa, Mezcla Libre de grasa SHS®, ProViMin®), teniendo mucho cuidado de no ingerir AG de cadena media en la dieta habitual (fórmulas con MCT o productos dietéticos con aceite de coco).
- Ingestión de azúcares de absorción lenta antes de cualquier esfuerzo físico notable superior a las actividades habituales, por el riesgo de rhabdomiólisis. No se aconseja limitar las actividades físicas ni el deporte escolar.

### Medidas domiciliarias

En caso de enfermedades intercurrentes o situaciones que pudieran ocasionar ayuno, como vómitos, fiebre o rechazo de la alimentación, hay que usar soluciones glucosadas orales o polímeros de glucosa, y aumentar en cantidad y frecuencia la ingesta de hidratos de carbono, como frutas, mermeladas, pastas, arroz, pan, maicena o gofio.

### Tratamiento hospitalario de urgencia

Las crisis agudas de hipoglucemia se deben tratar con glucosa hipertónica al 25% (2 mL/kg) o administrando, al menos, 7-12 mg/kg/min de glucosa i.v. al 10% (mejor que al 5%), monitorizando ésta hasta estabilizar los niveles de glucemia alrededor de 110-120 mg/dL (5-6 mmol/L). Es preferible el uso de una vía central. Los retrasos en el tratamiento de urgencia pueden provocar una muerte súbita o un daño cerebral permanente. En pacientes con trastornos severos y/o con descompensaciones frecuentes, se debe valorar la colocación de una vía central (*port-a-cath*), para permitir un acceso fácil en caso de emergencia.

### Tratamiento farmacológico

De forma individual, y dependiendo del déficit enzimático, se podría añadir:

- Carnitina. El empleo de este detoxificador suscita aún cierta controversia, por el riesgo de acumulación de acilcarnitinas de cadena larga y su potencial efecto en la pro-

ducción de arritmias cardíacas. Es absolutamente indispensable en el trastorno primario de captación o transporte de carnitina (200-400 mg/kg). Puede ser contraproducente en los trastornos relacionados con el transporte de las acilcarnitinas (deficiencia de CPT I, CPT II y CACT). En los pacientes con MCAD se puede usar durante la fase aguda de la enfermedad o en las descompensaciones. Su uso sistemático en el resto de las entidades es controvertido. La tendencia actual es no prescribirla. Sólo se debería valorar, y con mucha precaución, si se demuestran niveles bajos de carnitina, administrándose dosis bajas de 20-50 mg/kg/día en 4 tomas antes de las comidas<sup>5</sup>. No se han publicado ensayos clínicos controlados aleatorizados, o en curso, sobre su uso<sup>17</sup>.

- Riboflavina. En pacientes con deficiencia de MAD, en dosis de 50-200 mg/día.
- Polivitamínico. Se debe suplementar con un complejo polivitamínico y mineral que contenga todas las vitaminas liposolubles (A, D, E, K) por el riesgo de déficit<sup>9</sup>, aunque otros grupos sólo lo recomiendan en déficit documentados<sup>4</sup>.
- Creatina. Se ha sugerido en dosis de 4 g/día en pacientes con LCHAD, con frecuentes descompensaciones metabólicas, sintomatología muscular y que no responden a la dieta.

En el preoperatorio, durante los periodos de ayuno quirúrgicos, incluidas las extracciones dentales, se debe administrar suero glucosado i.v. al 10% antes, durante y después de la intervención.

### Otras medidas

- Evitar el ácido piválico, el ácido valproico, los salicilatos y el acetaminofen por consumir carnitina, y la adrenalina por su efecto lipolítico.
- Coenzima Q10 (ubiquinona) si se sospecha una afectación mitocondrial primaria o secundaria concomitante, sobre todo en MAD, y bezafibrato y D,L-3-hidroxibutirato (fase experimental).

### Bibliografía

- Sanjurjo P, García-Villoria J, Peña Quintana L, Merinero B, Couce ML, Ribes A. Protocolo de la AECOM. Deficiencias de la beta-oxidación mitocondrial de los ácidos grasos. *Acta Pediatr Esp*. 2011; 69 Supl: 77.
- Rinaldo P, Matern D, Bennett MJ. Fatty acid oxidation disorders. *Annu Rev Physiol*. 2002; 64: 477-502.
- Peña Quintana L, Sanjurjo Crespo P. Alteraciones de la beta-oxidación y del sistema carnitina. En: Sanjurjo P, Baldellou A, eds. *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas*, 3.<sup>a</sup> ed. Madrid: Ergon, 2009; 539-562.
- Spiekerkoetter U, Lindner M, Santer R, Grotzke M, Baumgartner MR, Boehles H, et al. Treatment recommendations in long-chain fatty acid oxidation defects: consensus from a workshop. *J Inherit Metab Dis*. 2009; 32(4): 498-505.
- Vockley J, Singh RH, Whiteman DA. Diagnosis and management of defects of mitochondrial beta-oxidation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002; 5(6): 601-609.
- Solis JO, Singh RH. Management of fatty acid oxidation disorders: a survey of current treatment strategies. *J Am Diet Assoc*. 2002; 102(12): 1.800-1.803.
- Peña Quintana L, Ramos Varela JC, Cazenave Guier E, Cetera Depetris N. Dieta y trastornos de la beta-oxidación. En: Novartis Consumer Health, S.A. Manual de recomendaciones nutricionales y dietéticas al alta hospitalaria en pediatría. Barcelona: Editorial Glosa, 2007; 249-256.
- Potter BK, Little J, Chakraborty P, Kronick JB, Evans J, Frei J, et al. Variability in the clinical management of fatty acid oxidation disorders: results of a survey of Canadian metabolic physicians. *J Inherit Metab Dis*. 2012; 35(1): 115-123.
- Gillingham MB, Connor WE, Matern D, Rinaldo P, Burlingame T, Meeuws K, et al. Optimal dietary therapy of long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2003; 79(2): 114-123.
- Roe Ch R, Sweetman L, Roe DS, David F, Brunengraber H. Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride. *J Clin Invest*. 2002; 110(2): 259-269.
- Jones PM, Butt YM, Bennett MJ. Effects of odd-numbered medium-chain fatty acids on the accumulation of long-chain 3-hydroxy-fatty acids in long-chain L-3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase and mitochondrial trifunctional protein deficient skin fibroblasts. *Mol Genet Metab*. 2004; 81(2): 96-99.
- Spiekerkoetter U, Bastin J, Gillingham M, Morris A, Wijburg F, Wilcken B. Current issues regarding treatment of mitochondrial fatty acid oxidation disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2010; 33(5): 555-561.
- Gillingham MB, Weleber RG, Neuringer M, Connor WE, Mills M, Van Calcar S, et al. Effect of optimal dietary therapy upon visual function in children with long-chain 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase and trifunctional protein deficiency. *Mol Genet Metab*. 2005; 86(1-2): 124-133.
- Lund AM, Skovby F, Vestergaard H, Christensen M, Christensen E. Clinical and biochemical monitoring of patients with fatty acid oxidation disorders. *J Inherit Metab Dis*. 2010; 33(5): 495-500.
- Gillingham MB, Scott B, Elliott D, Harding CO. Metabolic control during exercise with and without medium-chain triglycerides (MCT) in children with long-chain 3-hydroxy acyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) or trifunctional protein (TFP) deficiency. *Mol Genet Metab*. 2006; 89: 58-63.
- Feillet F, Ogier H, Cheillan D, Aquaviva C, Labarthe F, Baruteau J, et al. Medium-chain acyl-CoA-dehydrogenase (MCAD) deficiency: French consensus for neonatal screening, diagnosis, and management. *Arch Pediatr*. 2012; 19(2): 184-193.
- Nasser M, Javaheri H, Fedorowicz Z, Noorani Z. Administración de suplementos de carnitina para los errores congénitos del metabolismo (Revision Cochrane traducida). En: Biblioteca Cochrane Plus, número 3. Oxford: Update Software Ltd., 2009. Disponible en: <http://www.update-software.com> (traducida de: The Cochrane Library, Issue 2, CD006659. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2009).

# Manejo nutricional de errores innatos del metabolismo. Aminoacidopatías

I. Vitoria Miñana

*Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Universitario La Fe. Valencia*

## Introducción

En las aminoacidopatías y en los errores congénitos del metabolismo, en los que hay que limitar la ingesta de aminoácidos, debe controlarse el aporte de determinados aminoácidos: fenilalanina en la fenilcetonuria; valina, leucina e isoleucina en la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce; tirosina en la tirosinemia I; metionina, treonina y valina en la acidemia metilmalónica y la acidemia propiónica; leucina en la acidemia isovalérica; lisina y triptófano en la acidemia glutárica tipo I. La finalidad de este control es doble: un aporte excesivo desencadenaría una descompensación metabólica y un aporte insuficiente produciría una desnutrición proteica por falta de aporte de un aminoácido esencial. Por ello, en los lactantes se requiere realizar cálculos a partir de la composición de una fórmula adaptada y una fórmula especial para comprobar los aportes.

Calcular los aportes de aminoácidos y proteínas a partir de fórmulas en los lactantes con estos errores congénitos del metabolismo conlleva tiempo y, en ocasiones, un riesgo de error. Para ello, se ha diseñado una herramienta informática que permite el cálculo de los aportes recomendados a partir de una fórmula especial (exenta de aminoácidos limitantes específicos para cada enfermedad) y de una fórmula de inicio que facilite el cálculo de aportes nutricionales.

## Material y métodos

Para confeccionar la herramienta informática se ha diseñado una base de datos con las siguientes variables: edad y peso del niño, contenido en aminoácidos limitantes y proteínas naturales de la fórmula de inicio, equivalente proteico de la fórmula especial, así como aporte energético de la fórmula de inicio y de la fórmula especial. A partir de estos datos se obtienen, mediante una hoja de cálculo, los aportes diarios de aminoácidos, proteínas, kilocalorías y agua, que se comparan con las recomendaciones nutricionales establecidas por grupos de edad tanto de la Asociación Española de Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM) como de los autores de referencia en metabolopatías, como N. Blau y J.M. Saudubray.

Los errores congénitos del metabolismo incluidos en esta herramienta son: fenilcetonuria, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, tirosinemia tipo I, acidemia metilmalónica, acidemia propiónica, acidemia isovalérica y aciduria glutárica tipo I. Inicialmente se incluyeron las fórmulas especiales y fórmulas de inicio de diferentes casas comerciales.

## Objetivos del taller

1. Presentar y manejar la herramienta informática para calcular los aportes de aminoácidos, proteínas y energía a partir de fórmulas en lactantes con aminoacidopatías.
2. Conocer las dificultades del manejo nutricional de los casos clínicos de aminoacidopatías (valor de la glicina y de los ácidos orgánicos en la acidemias propiónica y metilmalónica, importancia del déficit de valina o isoleucina, utilidad de la carnitina...).

## Aplicación práctica del taller

En la aplicación informática se introducen el peso del niño y el número de gramos (o de medidas dosificadoras) de cada fórmula. De este modo se obtiene al momento el aporte diario, absoluto y por kg de peso, de kilocalorías, proteínas naturales, proteínas a partir de fórmulas especiales, aminoácidos limitantes y agua.

Durante el taller se presenta una «calculadora metabólica para lactantes», patrocinada por Nutricia Metabolics, con la que de forma segura, fácil y rápida se calculan los aportes nutricionales recomendados para lactantes afectados de aminoacidopatías. Esta herramienta tiene una finalidad meramente orientativa, y en ningún caso puede entenderse como un diagnóstico, recomendación, consejo u opinión médica o profesional de ningún tipo.



La Calculadora Metabólica para lactantes Nutricia está disponible en el entorno web de manera gratuita en la siguiente dirección: <http://nutriciaprofesionales.es/tools/calculadorametabolica/>.

Los apartados incluidos en la calculadora metabólica para lactantes son:

- Peso, edad y aminoácidos clave para cada metabolopatía.
- Estimación de la ingesta recomendada de líquidos y su equivalencia en medidas de cacitos.
- Panel para distribución de cacitos entre una fórmula de inicio y un sustituto proteico para lactantes específico de la metabolopatía seleccionada.
- Comparativa de recomendaciones nutricionales.
- Datos de equivalencias y referencias de interés en los que se basan las recomendaciones.

En la primera parte se incluyen los apartados para introducir la edad, el peso y el cálculo de recomendaciones de aminoácidos clave involucrados en cada metabolopatía. Con estos datos, el sistema calcula automáticamente el número de ca-

**Figura 1.** Aspecto de la aplicación informática nutricional con la introducción de datos del paciente y cálculo teórico orientativo de medidas dosificadoras

	Cantidad	Gramos	Agua (ml)	Phe (mg)	Tyr (mg)	Kcalorías	Proteínas (g)
 Agua	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="15"/>	20	17.8	57.8	22.1	0.4
 Phe	<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="20"/>	9	9	2.8	0.7	
<b>CALCULO TOTAL</b>							
	35		29	26.8	60.6	22.8	0.4
<b>RECOMENDACION</b>							
	15.2		2.9	2.9	16.2	0.4	

Resumen ingesta		Recomendación
<b>Tyr + Phe</b>	mg Tyr + Phe/glitosa	7.8
<b>Proteínas</b>	g Proteína/kg/día	0.4
	g Proteína/kg/día	0.4
<b>Kcalorías</b>	Kcal/kg/día	10.2
<b>Agua</b>	ml/kg/día	15.2

**Figura 2.** Aspecto de la aplicación informática nutricional con la obtención de datos nutricionales y su comparación con datos de referencia

bitos para la ingesta estimada de líquidos de 150 mL/kg como dato inicial orientativo (figura 1).

En la parte central, a partir del número estimado de medidas dosificadoras previamente calculado, se estima la dis-

tribución de medidas de fórmula de inicio y el producto específico para lactantes con metabolopatías. De este modo se obtienen los aportes recomendados de aminoácidos clave de la metabolopatía seleccionada, kilocalorías, proteínas y agua. Además, se establece una comparativa con las recomendaciones nutricionales, así como las equivalencias de aminoácidos (figura 2).

## Bibliografía

1. Aldamiz L, Sanjurjo P, González D. Tratamiento dietético de la hiperfenilalaninemia en el recién nacido y el niño. En: Asociación Española de Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM), ed. Guía clínica para el diagnóstico, tratamiento y registro de pacientes con hiperfenilalaninemia en España. Madrid: RB Edit, 2011; 29-4243-50.
2. Blau N, Burgard P. Disorders of phenylalanine and tetrahydropterine metabolism. En: Blau N, Hoffmann G, Leonard J, et al., eds. Physician's guide to the treatment of metabolic diseases. Berlín: Springer-Verlag, 2006; 25-34.
3. Holme E. 4 disorders of tyrosine degradation. En: Blau N, Hoffmann G, Leonard J, et al., eds. Physician's guide of the treatment of metabolic diseases. Berlín: Springer-Verlag, 2006; 49-55.
4. Institute of Medicine of the National Academies. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Washington: National Academy Press, 2005.
5. Nyhan W, Gibson KM. Disorders of valine-isoleucine metabolism. En: Blau N, Hoffmann G, Leonard J, et al., eds. Physician's guide of the treatment of metabolic diseases. Berlín: Springer-Verlag, 2006; 191-213.
6. Przyrembel H. Disorders of ornithine, lysine and tryptophan. En: Blau N, Hoffmann G, Leonard J, et al., eds. Physician's guide of the treatment of metabolic diseases. Berlín: Springer-Verlag, 2006; 277-299.
7. Wappner R, Gibson KM. Disorders of leucine metabolism. En: Blau N, Hoffmann G, Leonard J, et al., eds. Physician's guide of the treatment of metabolic diseases. Berlín: Springer-Verlag, 2006; 59-79.

# Galactosemia: del recién nacido al adulto. Traslación desde Pediatría a unidades de adultos en los errores congénitos del metabolismo

Ponentes: *Dra. M.<sup>a</sup> Luz Couce Picó, Dra. María Forga, Dra. Estela Rubio*

Moderadora: *Dra. Esperanza N. Castejón*

## Cribado neonatal de la galactosemia. Repercusión en la historia natural

M.L. Couce

*Complejo Hospitalario Universitario de Santiago*

Las galactosemias son errores congénitos del metabolismo de la galactosa que pueden ser causados por tres déficits enzimáticos diferentes, y es posible detectar los tres por el cribado neonatal.

Para llevar a cabo el cribado se puede utilizar solamente la determinación de galactosa (Gal) (total o libre), pero da un alto porcentaje de falsos positivos y puede haber falsos negativos, por lo que muchos programas cuantifican también la galactosa 1P (Gal 1P). La determinación de Gal y Gal 1P se puede efectuar por métodos fluorométricos que son rápidos, sensibles, específicos y fácilmente automatizables. En los últimos años disponemos de la espectrometría de masas en tándem, que mide hexosas monofosfato (tabla 1).

Una galactosa en cribado elevado puede deberse a una enfermedad metabólica del metabolismo de la galactosa, pero también puede ser de causa secundaria por<sup>1</sup>:

- Hepatitis congénita.

- Malformaciones congénitas arteriovenosas.
- Conducto arterioso persistente.
- Tirosinemia tipo 1, déficit de citrina, otros trastornos metabólicos que produzcan enfermedad hepática, síndrome de Bickel-Fanconi.

Si es positivo, el cribado se confirma cuantificando la galactosa y la galactosa 1P y midiendo la actividad enzimática de la galactosa 1P uridiltransferasa (GALT) para confirmar una galactosemia clásica. También puede llevarse a cabo un estudio genético.

Hay que tener presente en el cribado que a veces varios de los detectados son galactosemia Duarte y no necesitan generalmente tratamiento. Con la detección de hexosa monofosfato sólo los déficits de galactocinasa no se detectan. La diferenciación de la deficiencia de epimerasa de células rojas (una condición benigna) y de la deficiencia de epimerasa sistémica (similar al déficit de GALT) no siempre es clara.

**TABLA 1. Marcadores de detección de la galactosemia de causa primaria**

Enfermedad	Galactosa total en sangre	Galactosa libre	Galactosa 1P	Galactitol en orina
Déficit de galactocinasa	↑↑↑	↑↑↑	N o ↓	↑↑↑
Déficit de galactosa 1P uridiltransferasa	↑↑↑ (>20 mg %)	↑↑	↑↑↑ (>10 mg %)	↑↑
Déficit de epimerasa benigna	↑	N	↑	N
Déficit severo de epimerasa	↑	↑	↑	↑



La mayoría de los países que realizan cribado de galactosemia lo llevan a cabo para la detección de galactosa por déficit de galactosa 1P uridiltransferasa. En España, Galicia es la única Comunidad Autónoma que efectúa en el momento actual el cribado de galactosemia.

Se ha comprobado que el diagnóstico y el tratamiento precoz de la galactosemia por déficit de Gal 1P uridiltransferasa están en relación directa con la prevención de la morbilidad y la mortalidad de la enfermedad durante el periodo neonatal, evitando la aparición de secuelas irreversibles para el paciente. Sin embargo, parece no existir correlación entre la instauración del tratamiento antes del segundo mes de vida y la aparición de complicaciones tardías: retraso en el desarrollo psicomotor, trastornos en el habla, osteopenia, hipogonadismo hipergonadotropo<sup>2,3</sup>. La incidencia de esta entidad tras el cribado es de 1/30.000-1/50.000 RN vivos.

En la variante Duarte los trastornos del habla y del lenguaje parecen más frecuentes que en la población general. Se aconseja mantener el tratamiento hasta que la galactosa 1P se normaliza y comprobar que persiste con controles adecuados con leche con lactosa.

En 2011 se publica el primer artículo de seguimiento de galactocinasa detectada a través del cribado neonatal<sup>4</sup>. Los autores refieren una incidencia tras el cribado de 1/40.000 RN vivos (región de Berlín). Su detección y tratamiento precoz consigue buenos resultados. Se detectan cataratas hasta en el 50%, pero si el tratamiento se inicia en los 2 primeros meses de vida: se produce la mejoría o resolución de

las cataratas. Otros hallazgos menos frecuentes como hipoglucemia, retraso mental, microcefalia, fallo de medro, convulsiones, sordera o hepatomegalia fueron más vistos en la evolución en relación con el pobre cumplimiento dietético.

En la galactosemia por déficit de epimerasa hay muy poca experiencia con el cribado. La forma periférica no presenta clínica y no precisa tratamiento. La forma sistémica es muy rara, similar al déficit de GALT. No obstante, se están observando formas intermedias<sup>5</sup>.

## Bibliografía

1. Berry GT. Galactosemia: when is it a newborn screening emergency? *Mol Genet Metab*. 2012; 106(11): 7-11.
2. Jumbo-Lucioni P, Garber K, Kiel J, Baric I, Berry GT, Bosch A, et al. Diversity of approaches to classic galactosemia around the world: a comparison of diagnosis, intervention, and outcomes. *J Inherit Metab Dis*. 2012; 35(6): 1.037-1.049.
3. Cross KF, Doran PP, Owoeye C, Codd MB, Hamid N, Mayne PD, et al. Classical Galactosaemia in Ireland: incidence, complications and outcomes of treatment. *J Inherit Metab Dis*. 2013; 36(3): 21-27.
4. Hennermann JB, Schadewaldt P, Vetter B, Shin YS, Mönch E, Klein J. Features and outcome of galactokinase deficiency in children diagnosed by newborn screening. *J Inherit Metab Dis*. 2011; 34(2): 399-407.
5. Openo KK, Schulz JM, Vargas CA, Orton CS, Epstein MP, Schnur RE, et al. Epimerase-deficiency galactosemia is not a binary condition. *Am J Hum Genet*. 2006; 78(1): 89-102.

## European-American Galactosemia Network: objetivos y estrategias

M.E. Rubio-Gozalbo

*Pediatría de Errores Congénitos del Metabolismo. Departamento de Pediatría y Laboratorio de Enfermedades Genéticas Metabólicas. Hospital Universitario Maastricht. Maastricht (Holanda)*

Las galactosemias son un grupo de enfermedades que representan un desafío tanto para el médico clínico como para el investigador. En la actualidad nuestros conocimientos sobre galactosemia son insuficientes y no nos permiten prevenir las complicaciones. La medicina del siglo XXI requiere aunar esfuerzos mediante planteamientos multidisciplinarios y colaboraciones internacionales entre clínicos, científicos, nutricionistas y representantes de las asociaciones de pacientes.

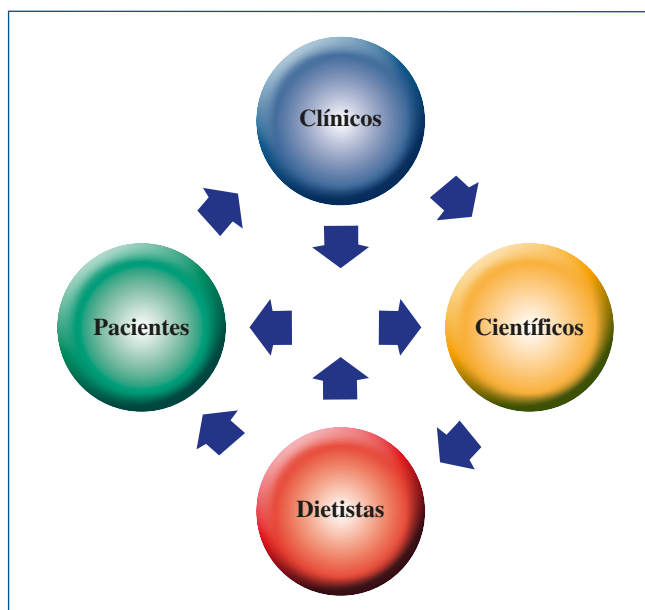
Durante una de las reuniones de la European Galactosemia Society (EGS) –una asociación europea de pacientes, con participación de clínicos e investigadores dedicados a las galactosemias–, en marzo de 2011, en Zúrich, se discutió la creación de una red para este grupo de enfermedades. Mediante una beca de esta asociación, Estela Rubio (H. Universitario Maastricht), junto con Eileen Treacy

(Children's Hospital, Dublín), Annet Bosch (Emma Children's Hospital, Ámsterdam) y Gerry Berry (Children's Hospital, Boston), elaboraron un documento que reflejaba esta iniciativa. En marzo de 2012 se envió este documento a diversos centros europeos particularmente interesados en las galactosemias, y más tarde a todos los miembros de la Asociación Internacional de Errores Congénitos del Metabolismo (SSIEM). La iniciativa fue acogida con gran entusiasmo, y en septiembre de 2012, durante el congreso de la SSIEM, en Birmingham, se celebró la reunión fundacional de esta red, denominada European-American Galactosemia Network. Actualmente la red incluye a 17 países europeos y a Estados Unidos. Nuestro principal objetivo es la mejora de la salud de estos pacientes y la disminución de las complicaciones de esta enfermedad. Los instrumentos que utilizaremos para conseguir este objetivo son la implementación y el



**Figura 1.** Cobertura geográfica y organización.

Estela Rubio, Eileen Treacy, Annet Bosch y Alberto Burlina forman el comité directivo europeo, y Gerry Berry y Susan Weisbrun el comité estadounidense. Cada país tiene sus representantes, y los de España son Paz Briones y María Forga. Actualmente la red cuenta con 50 miembros



**Figura 2.** Colaboración

mantenimiento de un registro, el desarrollo de pautas de diagnóstico, tratamiento y seguimiento actualizadas, y el establecimiento de colaboraciones científicas. Para el registro se ha realizado una selección de datos clínicos, bioquímicos

y genéticos relevantes, y en 2014 empezaremos con la recogida de datos de pacientes. La recogida de datos se llevará a cabo por fases, empezando por los países que pueden comprometerse a recoger un número de datos de pacientes previamente acordado. De esta manera, definiremos las necesidades y posibilidades por países. Paralelamente al registro, se elaborarán pautas actualizadas para el diagnóstico, el tratamiento y el seguimiento, se desarrollarán e implementarán marcadores de enfermedad mejores y se explorarán nuevas estrategias de tratamiento, como inhibidores de GALK, chaperones y otras. Es necesario establecer un mejor tratamiento más allá del periodo neonatal. La colaboración científica que combine los puntos fuertes de cada grupo nos permitirá un mayor conocimiento para acercarnos a nuestro principal objetivo: la mejora del futuro de estos pacientes.

En enero de 2014, apoyados con una beca del instituto de investigación nacional holandés para facilitar el desarrollo de redes en este tipo de enfermedades, organizaremos una reunión en Maastricht para la consolidación de nuestra estrategia: establecer planes concretos para la solicitud de becas y el desarrollo de pautas actualizadas.

En conclusión, el establecimiento y el desarrollo de esta red progresan de forma muy favorable. Con este enfoque, aunando fuerzas, con planteamientos y colaboraciones internacionales y multidisciplinarias, esperamos que en la próxima década la situación de los pacientes con galactosemia mejore notablemente.

# Pósteres

## SESIÓN 1

1	Enfermedades del ciclo de la urea en España: serie de 104 casos	30
5	Eficacia y seguridad del uso de la sapropterina en los menores de 4 años afectados de hiperfenilalaninemia	31
11	Presentación neonatal de una deficiencia de 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa	32
17	Biomarcadores cardiovasculares en pacientes con fenilcetonuria con dieta baja en proteínas o tratamiento con BH <sub>4</sub>	33
18	Tratamiento con tetrahidrobiopterina vs. dieta sin fenilalanina: efecto en el desarrollo de los pacientes PKU	34
19	Composición corporal en adultos con fenilcetonuria	35
21	Homocistinuria tipo cblE debido a deficiencia de metionina sintasa reductasa (MTRR): a propósito de dos casos con anemia macrocítica	36
22	Deficiencia de metionina adenosiltransferasa (MAT I/III): descripción de dos nuevos casos	37
26	¿Cuándo pensar en una malabsorción hereditaria de folato?	38
31	Un caso de citrulinemia II en España en un niño de origen rumano	39
33	Detección precoz de la deficiencia de cofactor de molibdeno analizando la muestra de orina en cribado neonatal ampliado	40
34	Cribado neonatal ampliado en la comunidad de Madrid: experiencia de una unidad clínica de seguimiento	41

## SESIÓN 2

4	Defectos del metabolismo de la vitamina B <sub>12</sub> por alteración en la remetilación de la homocisteína dependiente de folato	42
6	Defectos congénitos de glicosilación más allá de los síntomas clásicos	43
7	Diagnóstico de la enfermedad de Pompe por el laboratorio clínico	44
9	Estudio de veracidad de la actividad $\alpha$ -glucosidasa ácida en DBS	45
10	Análisis de $\alpha$ -aminoadípico semialdehído en orina de pacientes con enfermedades congénitas del metabolismo mediante LC-MS/MS	46
12	Utilidad de un método rápido para la hormona tirotrópica (TSH) en el cribado de hipotiroidismo congénito	47
13	Análisis de ácido pipecólico por HPLC/MS/MS en pacientes con epilepsia dependiente de piridoxina, enfermedad peroxisomal e hiperlisinemia	48
14	Enfermedad de Canavan. A propósito de un caso	49
15	Utilidad del complejo heparina cofactor II-trombina como biomarcador en el diagnóstico de las mucopolisacaridosis I, II y VI	50
20	Tratamiento enzimático sustitutivo precoz en el síndrome de Hurler-Scheie	51
24	Epilepsia como forma de presentación de la hiperprolinemia tipo I. A propósito de dos casos	52
27	Enfermedad de Menkes con afectación extensa de sustancia blanca y de ganglios basales	53
28	Niña de 2 años con mucopolisacaridosis tipo I (MPS I) y genotipo p.[W402x];[p533r]: trasplante o no trasplante	54
29	Seguimiento de dos pacientes con déficit de isobutiril CoA deshidrogenasa	55



## SESIÓN 1

## 1

## TÍTULO

## Enfermedades del ciclo de la urea en España: serie de 104 casos

LECTOR: Elena Martín Hernández

## AUTORES

Martín-Hernández E<sup>1</sup>, Castejón-Ponce E<sup>2</sup>, Pedrón-Giner C<sup>3</sup>, Couce Pico ML<sup>4</sup>, Serrano-Nieto J<sup>5</sup>, Sanjurjo Crespo P<sup>6</sup>, Pintos-Morell G<sup>7</sup>, Vitoria-Miñana I<sup>8</sup>, Dalmau J<sup>8</sup>, Martínez-Pardo M<sup>9</sup>, Belanguer-Quintana A<sup>9</sup>, Lama-More R<sup>10</sup>, García-Silva MT<sup>1</sup>, Bueno Delgado M<sup>11</sup>, Del Toro-Riera M<sup>12</sup>, Quijada-Fraile P<sup>1</sup>, García-Jiménez MC<sup>13</sup>, Sierra-Córcoles C<sup>14</sup>, Ruiz-Pons M<sup>15</sup>, Peña-Quintana LJ<sup>16</sup>, Vives-Piñera I<sup>17</sup>, Moráis A<sup>10</sup>, Balmaseda-Serrano E<sup>18</sup>, Meavilla S<sup>2</sup>, Aldámiz Echevarría L<sup>6</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. <sup>2</sup>Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona. <sup>3</sup>Hospital Universitario Infantil del Niño Jesús. Madrid. <sup>4</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. Santiago de Compostela (A Coruña). <sup>5</sup>Hospital Materno-Infantil Carlos Haya. Málaga. <sup>6</sup>Hospital Universitario de Cruces. Baracaldo (Vizcaya). <sup>7</sup>Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). <sup>8</sup>Hospital Infantil La Fe. Valencia. <sup>9</sup>Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. <sup>10</sup>Hospital Universitario La Paz. Madrid. <sup>11</sup>Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. <sup>12</sup>Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. <sup>13</sup>Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. <sup>14</sup>Complejo Hospitalario de Jaén. Jaén. <sup>15</sup>Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. <sup>16</sup>Hospital Universitario Materno-Infantil de Las Palmas. Las Palmas de Gran Canaria. <sup>17</sup>Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. <sup>18</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete

## OBJETIVOS

Describir la situación de los pacientes con enfermedades del ciclo de la urea en nuestro país.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recogido retrospectivamente datos clínicos de los pacientes vivos con enfermedades del ciclo de la urea.

## RESULTADOS

Se han recogido 104 casos remitidos por 25 médicos de 18 hospitales. De ellos, 49 eran varones (47%) y 55 mujeres (53%); en 6 (5,8%) existía consanguinidad de los padres y en 21 (20%) había antecedentes familiares. Sesenta y siete casos con déficit de ornitina transcarbamilasa, 22 con citrulinemia, 10 con aciduria arginosuccínica, 2 con déficit de carbamilsfatos sintetasa, 2 con déficit de arginasa y 1 con déficit de N-acetilglutamato sintetasa. El debut clínico fue neonatal en 30 (28,8%) casos y tardío en 64 (61,5%). Diez (9,6%) pacientes se diagnosticaron estando asintomáticos, bien a través del cribado neonatal o por los antecedentes familiares. Seis pacientes (5,8%) fueron diagnosticados por cribado neonatal. La mediana de edad en el momento de la aparición de los síntomas fue de 13 meses (rango: 1 día-45 años). En 40 casos la enfermedad debutó durante el primer año de vida y en 37 casos entre el año y los 6 años. Los síntomas más frecuentes al debut fueron los neurológicos (60,6% de los pacientes); 53 (51%) casos debutaron como un síndrome de intoxicación. La mediana del valor máximo de amonio fue de 243  $\mu\text{mol/L}$  (rango 8-4.584) y la del valor máximo de glutamina fue de 1.095  $\mu\text{mol/L}$  (rango 189-4.000). Durante el periodo de la recogida de datos fallecieron 3 pacientes en los primeros días de vida, 2 con déficit de ornitina transcarbamilasa y 1 con citrulinemia. La mediana de la edad actual es de 9 años; 25 pacientes tienen más de 18 años. Cinco pacientes han sido trasplantados. Cincuenta y tres (51%) pacientes presentan secuelas neurológicas y 7 (7,2%) afectación hepática. La mediana del nivel de amonio es de 33  $\mu\text{mol/L}$ , y la de glutamina es de 716  $\mu\text{mol/L}$ . Noventa y un pacientes siguen dieta baja en proteínas y 53 reciben un suplemento de aminoácidos esenciales. Sesenta y cinco pacientes están en tratamiento farmacológico: 4 con benzoato sódico, 50 con fenilbutirato de sodio, 10 con benzoato sódico más fenilbutirato de sodio y 1 con ácido carglúmico.

## CONCLUSIONES

Una cuarta parte de los pacientes han alcanzado la edad adulta, por lo que es necesaria la organización de centros de adultos para su seguimiento y control. La base del tratamiento es la dieta, por lo que deberían integrarse dietistas en las unidades metabólicas. El tratamiento farmacológico más utilizado es el fenilbutirato de sodio.

## 5

## TÍTULO

## Eficacia y seguridad del uso de la sapropterina en los menores de 4 años afectos de hiperfenilalaninemia

**LECTOR:** Laura Gil Ferrer

## AUTORES

Gil-Ferrer L<sup>1</sup>, Abizanda-Guillén AM<sup>1</sup>, Beltrán-García S<sup>1</sup>, Baquero-Montoya C<sup>2</sup>, López-Úbeda M<sup>1</sup>, Cardiel-Valiente L<sup>1</sup>, González-Irazábal Y<sup>3</sup>, García-Jiménez MC<sup>1</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Infantil Miguel Servet. Zaragoza. España. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín. Colombia. <sup>3</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Miguel Servet. Zaragoza

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El tratamiento con tetrahidrobiopterina (BH<sub>4</sub>) (sapropterina) mejora la tolerancia a la fenilalanina (Phe) en un 20-50% de los pacientes con fenilcetonuria (PKU) y puede ayudarles a mantener un adecuado control de los niveles de Phe en sangre, permitiendo una relajación de la dieta restringida en Phe. En la actualidad la sapropterina no está aprobada para uso en menores de 4 años. Describimos nuestros casos de pacientes menores de 4 años en los que se ha utilizado la sapropterina en el manejo de la enfermedad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio descriptivo longitudinal, basado en la revisión de historias clínicas, de pacientes diagnosticados de hiperfenilalaninemia mediante *screening* neonatal y que siguen control en una unidad de metabolismo de un hospital terciario, que iniciaron tratamiento con BH<sub>4</sub> antes de los 4 años de edad. Se recogen datos analíticos referentes al tratamiento, valoración neuropsicológica mediante test psicométricos y existencia de posibles efectos adversos.

## RESULTADOS

Se describen un total de 8 casos. El diagnóstico se realizó mediante *screening* neonatal y en todos ellos se confirmó mediante estudio molecular excluyéndose una deficiencia de BH<sub>4</sub>. La Phe plasmática al diagnóstico oscila entre 92 y 1.699 nmol/mL. El inicio del tratamiento con BH<sub>4</sub>/sapropterina oscila desde el periodo neonatal hasta los 15,5 meses de vida. Seis de ellos han sido respondedores al tratamiento, permitiendo una liberalización total de la dieta. En 2 casos no ha sido posible la liberalización de la dieta, pero se ha permitido un mejor control de los niveles de Phe. La duración del tratamiento ha variado entre 3 meses y 4 años y 8 meses (media de 2,7 años). En ningún caso se han descrito efectos adversos asociados. Se ha controlado mediante test validados el desarrollo psicomotor de los pacientes, siendo normales para la edad.

## CONCLUSIONES

La introducción de la sapropterina en el manejo de la PKU plantea cuestiones más allá de únicamente el control de los niveles de Phe. El tratamiento con sapropterina permite liberalizar la dieta de los pacientes con hiperfenilalaninemia y un mejor control de la Phe plasmática, con la consiguiente mejora en la calidad de vida. No se han asociado efectos adversos al mismo. Creemos que la sapropterina debe ser introducida en el tratamiento de los pacientes con PKU de una forma individualizada de acuerdo con las necesidades de cada uno, sin disminuir el control dietético y médico.

## 11

## TÍTULO

## Presentación neonatal de una deficiencia de 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa

LECTOR: Fernando García Muñoz

## AUTORES

García F<sup>1</sup>, Quijada P<sup>2</sup>, Sanz P<sup>1</sup>, Leal F<sup>1</sup>, Martín E<sup>2</sup>, García MT<sup>2</sup>, Ugarte M<sup>1</sup>, Merinero B<sup>1</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. CIBERER. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. <sup>2</sup>Unidad Pediátrica de Enfermedades Raras. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

## FUNDAMENTO Y OBJETIVOS

La metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es una enzima dependiente de folato que cataliza la remetilación de homocisteína a metionina. Su deficiencia es una enfermedad autosómica recesiva, caracterizada por hiperhomocisteinemia, homocistinuria, hipometioninemia y niveles disminuidos de MTHF en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los síntomas pueden aparecer desde el periodo neonatal hasta la edad adulta, cursando por lo general con deterioro neurológico. Describimos un caso de presentación neonatal y su evolución clínica, bioquímica y neurorradiológica hasta la edad actual (19 meses).

## OBSERVACIONES CLÍNICAS

Niña que presentó desde el nacimiento hipotonía marcada con llanto débil, escasos movimientos espontáneos, dificultad para la deglución y escasa ganancia ponderal. A los 12 días de vida ingresa por parada respiratoria tras pausa de apnea. Los hallazgos bioquímicos fueron hipometioninemia (0,5 µmol/L; N: 18-36), hiperhomocisteinemia (182 µmol/L; N: 3,9-8,7), niveles no detectables de MTHF en LCR y homocistinuria (272 mmol/mol creat; N <12), siendo normal la excreción de ácidos orgánicos. Estas alteraciones eran compatibles con un defecto de MTHFR. El análisis del gen *MTHFR* confirmó la presencia de dos cambios nucleotídicos patológicos: uno nuevo, c.467T>C (p.Leu156Pro), y otro ya descrito, c.1699C>T (p.Arg156Term). Tras la sospecha diagnóstica se trató con hidroxibalamina, betaína, ácido fólico y vitamina B<sub>6</sub>, presentando mejoría clínica con desaparición de las pausas de apnea y mejoría en los movimientos espontáneos. Consiguió fijación y seguimiento visual antes de los 3 meses, sosten cefálico a los 6 meses, sedestación a los 12 meses y bipedestación a los 17 meses. Los niveles plasmáticos de metionina se han normalizado, pero otros parámetros como la homocisteína, la homocistina y el MTHF todavía permanecen alterados, siendo el valor de homocisteína más bajo alcanzado de 57,6 µmol/L. La resonancia magnética (RM) cerebral a los 23 días objetivó hiperintensidad de señal de la sustancia blanca. A los 13 meses se repitió la RM por macrocefalia, mostrando hidrocefalia, pérdida de sustancia blanca e hipoplasia cerebelosa. Se colocó una válvula de derivación ventriculoperitoneal.

## COMENTARIO

Los niveles no detectables de MTHF en LCR han sido determinantes para orientar el diagnóstico bioquímico. El tratamiento precoz ha permitido una evolución favorable, aunque aún presenta leve retraso psicomotor y alteraciones a nivel bioquímico y neurorradiológico.

## 17

**TÍTULO****Biomarcadores cardiovasculares en pacientes con fenilcetonuria con dieta baja en proteínas o tratamiento con BH<sub>4</sub>****LECTOR:** Luis Aldámiz-Echevarría Azuara**AUTORES**

Andrade F, Llarena M, Sanjurjo P, Aldámiz-Echevarría L

**INSTITUCIÓN**

Unidad de Metabolismo. Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo (Bizkaia)

**ANTECEDENTES**

La arginina (Arg) incorporada en las proteínas puede ser metilada y por proteólisis dar lugar a la dimetilarginina asimétrica (ADMA), que compite con la L-arginina por la unión a la óxido nítrico sintasa (NOS). Varios estudios realizados sugieren que el aumento de los niveles de ADMA puede ser utilizado para evaluar el riesgo cardiovascular. Los pacientes con fenilcetonuria (PKU) pueden padecer un elevado estrés oxidativo debido al tratamiento con una dieta baja en proteínas o con BH<sub>4</sub>. Los niveles de ADMA libre dependen tanto del metabolismo proteico como del estrés oxidativo; por eso los niveles de ADMA pueden ser diferentes dependiendo del tratamiento.

**PACIENTES Y MÉTODOS**

Se ha realizado un estudio transversal con 18 pacientes con PKU tratados con una dieta baja en proteínas o con BH<sub>4</sub>. Se han analizado las siguientes variables bioquímicas: ADMA, SDMA (dimetilarginina simétrica), tHcys (niveles plasmáticos totales de homocisteína), PCR (proteína C reactiva), ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y ácido metilmalónico.

**RESULTADOS**

Los valores de ADMA, SDMA y PCR fueron inferiores en los pacientes tratados con dieta baja en proteínas en comparación con los tratados con BH<sub>4</sub>. Los valores de tHcys, ácido metilmalónico y cociente L-arginina/ADMA fueron inferiores en tratamiento con BH<sub>4</sub>. Los niveles de vitamina B<sub>12</sub> fueron más bajos en pacientes con BH<sub>4</sub> en comparación con los niveles de ácido fólico.

**DISCUSIÓN**

Los valores de ADMA y SDMA fueron ligeramente superiores y el cociente L-arginina/ADMA fue más bajo en niños con PKU tratados con BH<sub>4</sub>, por lo que la síntesis de NO podría estar alterada en contraste con los pacientes que siguen una dieta baja en proteínas. El perfil metabólico y el riesgo cardiovascular podrían ser diferentes en los pacientes con PKU dependiendo de su tratamiento.

## 18

## TÍTULO

## Tratamiento con tetrahidrobiopterina vs. dieta sin fenilalanina: efecto en el desarrollo de los pacientes PKU

**LECTOR:** Luis Aldámiz-Echevarría Azuara

## AUTORES

Aldámiz-Echevarría L<sup>1</sup>, Bueno MA<sup>2</sup>, Couce ML<sup>2</sup>, Lage S<sup>1</sup>, Dalmau J<sup>4</sup>, Vitoria I<sup>4</sup>, Andrade F<sup>1</sup>, Blasco J<sup>5</sup>, Alcalde C<sup>6</sup>, Gil D<sup>7</sup>, García MC<sup>8</sup>, González-Lamuño D<sup>9</sup>, Ruiz M<sup>10</sup>, Ruiz MA<sup>11</sup>, González D<sup>12</sup>, Sánchez-Valverde F<sup>13</sup>, Llarena M<sup>1</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>División de Metabolismo. Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo. Bizkaia. <sup>2</sup>Unidad de Desórdenes Metabólicos, Dietética y Nutrición. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. <sup>3</sup>Unidad de Desórdenes Metabólicos. Hospital Universitario de Santiago. Santiago de Compostela (A Coruña). <sup>4</sup>Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Universitario La Fe. Valencia. <sup>5</sup>Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Infantil. Hospital Universitario Carlos Haya. Málaga. <sup>6</sup>Unidad Pediátrica. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. <sup>7</sup>Unidad de Gastroenterología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. <sup>8</sup>Unidad de Metabolopatías. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. <sup>9</sup>Unidad de Nefrología y Metabolismo. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. <sup>10</sup>Unidad Pediátrica. Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. <sup>11</sup>Unidad de Metabolopatías y Neuropediatría. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca. <sup>12</sup>Unidad de Metabolopatías. Hospital Materno-Infantil. Badajoz. <sup>13</sup>Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Hospital Virgen del Camino. Pamplona (Navarra)

## INTRODUCCIÓN

El tratamiento con tetrahidrobiopterina se ha convertido en una nueva opción terapéutica para algunos pacientes PKU, permitiéndoles liberalizar su dieta. Sin embargo, poco se ha investigado sobre los efectos de esta terapia en el desarrollo físico.

## MÉTODO

Mediante este estudio retrospectivo longitudinal, hemos analizado las características antropométricas (*Z-score* de altura, peso, índice de masa corporal y velocidad de crecimiento) de una cohorte de pacientes PKU tratados con tetrahidrobiopterina (n= 38) comparando sus características con pacientes PKU bajo dieta restringida en fenilalanina (n= 76).

## RESULTADOS

No se observó mejoría en las variables antropométricas de la cohorte con tetrahidrobiopterina, desde el inicio del tratamiento hasta los 2 o 5 años con ese tratamiento. En la mayoría de los casos tuvo lugar un descenso en la media de los *Z-score* de las variables. No se encontraron correlaciones entre la ingesta elevada de proteínas y el crecimiento en pacientes con tetrahidrobiopterina. El retraso en el crecimiento también fue patente en los pacientes PKU con dieta sin fenilalanina.

## DISCUSIÓN

Mediante este estudio se evidencia el retraso en el crecimiento de los pacientes PKU bajo tetrahidrobiopterina, a pesar de ingerir mayor cantidad de proteínas naturales. De hecho, pacientes con tratamientos prolongados de tetrahidrobiopterina alcanzaron desarrollos pondoestaturales similares a los de los pacientes con dietas restringidas.

## 19

**TÍTULO****Composición corporal en adultos con fenilcetonuria****LECTOR:** Dolores García Arenas**AUTORES**

García Arenas D, Gutiérrez Sánchez A, Egea Castillo N, Meavilla Olivas S, Castejón Ponce E, Artuch Iriberrí R, Campistol Plana J, Lambruschini Ferri N

**INSTITUCIÓN**

Servicio de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

**INTRODUCCIÓN**

La finalidad del tratamiento en la fenilcetonuria (PKU) es mantener unos niveles óptimos de fenilalanina (Phe) en sangre, bien con medicación (sapropterina) y/o disminuyendo las proteínas naturales de la dieta. En el último caso, algunos pacientes tienden a consumir una dieta rica en carbohidratos y grasas que predispone al sobrepeso/obesidad, con importantes comorbilidades asociadas.

**OBJETIVOS**

Identificar la incidencia de obesidad y sobrepeso en nuestros pacientes adultos en comparación con la de la población general; así como el riesgo cardiovascular, y si existe relación con un mal control metabólico (Phe >600  $\mu\text{mol/L}$ ).

**MÉTODO**

Se revisaron 40 pacientes PKU (40% hombres, 60% mujeres) >18 años, tratados con dieta baja en proteína natural suplementada con fórmula. Los datos recogidos fueron edad, sexo, peso, talla, presión arterial y circunferencias de cintura y cadera. A partir de estas mediciones se calculó el índice cintura/cadera (ICC), el índice de Quetelet (IMC) y la media de la concentración de Phe en los 12 meses previos y su correlación con la valoración nutricional.

**RESULTADOS**

La edad media de la muestra fue de 29 años ( $\text{DS} \pm 9$ ); media del IMC 24  $\text{DS} \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$  (16 varones 24,6  $\text{DS} \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$ , 24 mujeres 23,8  $\text{DS} \pm 3,8 \text{ kg/m}^2$ ). El 27,5% tenía IMC >25  $\text{kg/m}^2$  (25% mujeres, 31,3% hombres) y el 7,5% >30  $\text{kg/m}^2$  (8,3% mujeres, 6,3% hombres), resultando la prevalencia de sobrepeso/obesidad menor que la de la población española (39,2% sobrepeso; 15,5% obesidad). Según el ICC 20 pacientes mostraron riesgo cardiovascular: 37,5% varones (ICC >0,95) y 58,3% mujeres (ICC >0,8). Presentaron hipertensión ( $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ ) 6 pacientes, 50% varones y 50% mujeres. La media de concentración de Phe fue de 658  $\text{DS} \pm 229 \mu\text{mol/L}$ , resultando con mal control metabólico (Phe >600  $\mu\text{mol/L}$ ) 58,3% mujeres y 50% varones. Se observó asociación estadística significativa entre el mal control metabólico, la falta de adherencia a la dieta y el riesgo cardiovascular ( $\chi^2 = 3,63$ ;  $p = 0,05$ ) y correlación entre el aumento del IMC y un mayor ICC ( $r = 0,47$ ;  $p = 0,01$ ).

**CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos muestran una tendencia de sobrepeso/obesidad menor, aunque coinciden en el mayor porcentaje de mujeres frente a varones con obesidad y menor en sobrepeso, en comparación con la población española. En nuestra muestra, se ha encontrado relación entre el mal cumplimiento de la dieta, el mantenimiento de niveles inadecuados de fenilalanina y un aumento del riesgo cardiovascular. Se debe concienciar a los pacientes en la adopción de un estilo de vida saludable, y la adherencia a la dieta controlada en proteínas y equilibrada, para mantener una composición corporal adecuada en la etapa adulta.

## 21

**TÍTULO****Homocistinuria tipo cbIE debido a deficiencia de metionina sintasa reductasa (MTRR): a propósito de dos casos con anemia macrocítica****LECTOR:** Carmen Delgado Pecellín**AUTORES**Delgado Pecellín C<sup>1</sup>, Conde Sánchez M<sup>1</sup>, Bueno Delgado MA<sup>1</sup>, Herrera Díaz-Aguado A<sup>1</sup>, Pérez de Soto I<sup>1</sup>, Castro Reguera M<sup>1</sup>, Pérez-Cerdá Silvestre C<sup>2</sup>, Merinero Cortés B<sup>2</sup>**INSTITUCIÓN**<sup>1</sup>Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. <sup>2</sup>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. Universidad Autónoma de Madrid**FUNDAMENTO Y OBJETIVO**

La deficiencia de MTRR es un trastorno autosómico recesivo del metabolismo de la homocisteína que se presenta con anemia megaloblástica, hiperhomocisteinemia e hipometioninemia. La MTRR es necesaria para la activación de la metionina sintasa (MS), responsable de la conversión de la homocisteína en metionina. Dado el escaso número de pacientes descritos en la literatura, es de gran interés la presentación de nuevos casos para la correcta caracterización de la enfermedad.

**OBSERVACIONES CLÍNICAS**

**CASO 1:** Niña de 8 años de edad, asintomática y con buen desarrollo pondoestatural y psicomotor. A los 4 meses de vida presentó anemia severa (hemoglobina 6,2 g/L) con macrocitosis (volumen corpuscular medio [VCM] 101 fL) que requirió transfusión. Desde los 5 meses sin anemia, pero siempre se mantuvo la macrocitosis. Se encontraron niveles elevados de homocisteína (>60 µmol/L; N <12) y niveles bajos de metionina en plasma sin homocistinuria, así como excreción normal de ácidos orgánicos. Se realizó tratamiento con vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina) sin que descendieran los niveles de homocisteína y tampoco mejoró la macrocitosis. El análisis del gen *MTRR* identificó dos mutaciones, una descrita, c.1361C>T, y otra nueva, c.1677-1G>A (p.Glu-560fs).

**CASO 2:** Mujer de 29 años diagnosticada de anemia megaloblástica con intensos fenómenos diseritropoyéticos y hemólisis desde los 2 años que requiere la realización de frecuentes transfusiones. Además presenta polineuropatía mixta de predominio motor y alteraciones de la conducta que requirieron varios ingresos en la unidad de psiquiatría, con lesiones hiperintensas de la sustancia blanca periventricular en RMN. Presentaba hiperhomocisteinemia (129 µmol/L; N <12) y disminución de metionina en repetidos análisis, sin homocistinuria, y excreción normal de ácidos orgánicos. El análisis genético identificó una única mutación en homocigosis c.1361C>T (p.Ser545Leu).

**COMENTARIO**

Se describen dos casos que presentan en común anemia macrocítica con diseritropoyesis, la presencia de hiperhomocisteinemia e hipometioninemia, que fueron determinantes en la sospecha diagnóstica, y ausencia de homocistinuria, dato común en los pacientes descritos en la literatura. Es destacable la diferencia de la gravedad de las manifestaciones clínicas y su evolución en ambos casos. La identificación del primer caso facilitó el diagnóstico del segundo.

## 22

## TÍTULO

## Deficiencia de metionina adenosiltransferasa (MAT I/III): descripción de dos nuevos casos

LECTOR: Inmaculada Vives Piñera

## AUTORES

Balsameda Serrano E, Gil Ortega D, Egea Mellado JM, Juan Fita MJ, González Gallego I, Pérez González B, Fernández Sánchez A

## INSTITUCIÓN

Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha avanzado en el conocimiento de las hipermetioninemias y su fisiopatología. A partir de la instauración de los programas de cribado neonatal, cuyo fin principal es el diagnóstico precoz de la homocistinuria, se detectan hipermetioninemias cuyo origen y manejo generan controversia. Éste es el caso del déficit de MAT I/III, entidad descrita por primera vez en los años setenta y cuyo impacto clínico se desconoce aún. De aquí la importancia de avanzar en el estudio del genotipo/fenotipo e identificar qué casos se beneficiarían de tratamiento. En la actualidad existen datos muy dispares, desde pacientes completamente asintomáticos en su mayoría a pacientes con afectación neurológica. Presentamos dos nuevos casos de déficit de MAT I/III detectados en el cribado neonatal.

## DESCRIPCIÓN DE CASOS

CASO 1: Recién nacida con elevación de metionina (181,75  $\mu\text{mol/L}$ ; vn: 5,28-27,54) en cribado neonatal (3.<sup>er</sup> día). Ratio fenilalanina/metionina 8,69 (vn: 0,07-0,48), metionina en orina 52,8  $\mu\text{g/mL}$  (vn: 50,9-131), homocistina en orina 9,51  $\mu\text{g/mL}$  (vn: 0-23,4), homocisteína total 23,1  $\mu\text{mol/L}$ . En controles sucesivos la cifra de metionina va progresivamente en ascenso hasta 1.230  $\mu\text{mol/L}$ , motivo por el que se inicia dieta baja en este aminoácido. La paciente presenta una nueva mutación en homocigosis (p. Thr288Ala, c.862A>G) no descrita previamente pero que se presupone patogénica. Las cifras de metionina descienden tras la dieta y no ha presentado ningún síntoma.

CASO 2: Recién nacido con cifras de metionina en cribado (5.<sup>o</sup> día) de 121  $\mu\text{mol/L}$ , homocisteína total 15,7  $\mu\text{mol/L}$ , S-adenosilmetionina 50 nmol/L (vn: 34,8-79,5) y S-adenosilhomocisteína 19 nmol/L (vn: 11,8-39,4). Se decide inicio de dieta baja en metionina por elevación de la misma hasta 830  $\mu\text{mol/L}$ , sin sintomatología asociada. Presenta una mutación en hemicigosis (p.Arg-199Cys, c.595C>T) descrita en otros pacientes pero con carácter recesivo.

## CONCLUSIONES

Es necesario conocer la historia natural de esta enfermedad para poder definir en un futuro el manejo terapéutico. Parece razonable el inicio de tratamiento dietético en los casos con cifras de metionina muy elevadas para prevenir su potencial daño neurológico. Las cifras de metionina al nacimiento tampoco parecen ser un factor predictivo de la necesidad de tratamiento, por lo que recomendamos un estrecho seguimiento de estos pacientes.



## 26

## TÍTULO

## ¿Cuándo pensar en una malabsorción hereditaria de folato?

LECTOR: Jordi Sorribes Estorch

## AUTORES

Sorribes Estorch J, Beltrán García S, Baquero Montoya C, Gil Hernández I, González Irazábal Y, Rodríguez Pombo P, Pardo Merino B, García Jiménez MC

## INSTITUCIÓN

Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

## FUNDAMENTOS Y OBJETIVOS

La malabsorción hereditaria de folato es una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por el mal funcionamiento del transportador de folato ligado a protones, debido a una mutación del gen *SLC46A1*. Dicho transportador se encuentra en la mucosa intestinal y en la barrera hematoencefálica. Los pacientes presentan niveles disminuidos de ácido fólico en plasma y líquido cefalorraquídeo (LCR). Los síntomas suelen aparecer pocos meses después del nacimiento y consisten en anemia megaloblástica, inmunodeficiencia, infecciones recurrentes, diarrea y déficits neurológicos. El objetivo es comunicar la existencia de dos nuevos casos, nuestra aproximación diagnóstica y terapéutica y sus retos.

## OBSERVACIONES CLÍNICAS

Paciente de origen marroquí y padres consanguíneos, con antecedente de un primo fallecido a los 2 meses de vida por sepsis. A los 2 meses de edad, en el contexto de un cuadro de bronquiolitis, presenta sepsis y pancitopenia. En el estudio metabólico se evidenció una homocisteína de 40  $\mu\text{mol/L}$  (valores de referencia 4-17), vitamina B<sub>12</sub> de 231 pg/mL (valores de referencia 180-914) y ácido fólico de 4,4 ng/mL (valores de referencia 3,10-19,90). Se inició tratamiento con hidroxycobalamina intramuscular y ácido fólico vía oral ante la sospecha diagnóstica de un posible defecto de la remetilación, con recuperación precoz de los niveles de vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína y parámetros hematológicos, mientras que el ácido fólico descendió. Ante estos hallazgos se planteó la posibilidad de un defecto en el transportador del folato que, junto con niveles indetectables de metiltetrahidrofolato (MTHF) en LCR, apoyó el diagnóstico, instaurándose tratamiento con hidroxycobalamina 1 mg intramuscular y folinato cálcico 10 mg intramuscular 3 veces por semana. El análisis genético demostró una nueva mutación del gen *SLC46A1* (c.981\_982delCT; p.Tyr-327Term). Actualmente el paciente se encuentra asintomático y con niveles de ácido fólico en plasma normales, pero con niveles de MTHF bajos en LCR.

## COMENTARIO

La malabsorción hereditaria de folato es una enfermedad rara, con sólo unos 30 casos descritos en la literatura. Debe sospecharse ante la presencia de pancitopenia y sepsis con niveles de ácido fólico bajos que pese al tratamiento no mejoran. Las opciones terapéuticas implican la administración en dosis variables de preparados de ácido fólico intramuscular para alcanzar niveles adecuados de MTHF en LCR. La escalada terapéutica exige la determinación seriada de sus niveles en LCR y un manejo individualizado de cada caso. El pronóstico neurológico de nuestro paciente a largo plazo es incierto si no conseguimos elevar los niveles de MTHF en LCR.

## 31

## TÍTULO

## Un caso de citrulinemia II en España en un niño de origen rumano

LECTOR: Isidro Vitoria Miñana

## AUTORES

Vitoria I<sup>1</sup>, Dalmau J<sup>1</sup>, Pérez C<sup>1</sup>, Polo B<sup>2</sup>, Rausell D<sup>3</sup>, García AM<sup>3</sup>, López J<sup>4</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>Unidad de Nutrición y Metabolopatías. <sup>2</sup>Unidad Pediátrica de Gastroenterología y Hepatología. <sup>3</sup>Laboratorio de Metabolopatías. Hospital Universitario La Fe. Valencia. <sup>4</sup>Centro de Genética Molecular Genetaq. Málaga

## FUNDAMENTO Y OBJETIVOS

La colestasis intrahepática por déficit de citrina (NICCD) o citrulinemia II es una enfermedad casi confinada a la población del Este asiático. Sólo han sido descritos 8 casos en población caucásica. Se presenta el primer caso en nuestro país, sus dificultades de diagnóstico y manejo.

## OBSERVACIÓN CLÍNICA

Neonato de 22 días ingresado por sospecha de sepsis con hepatomegalia, ictericia y anemia que requiere transfusión. No rasgos dismórficos. Toma lactancia materna (LM). Tercer hijo de padres no consanguíneos sanos caucásicos rumanos. *Screening* neonatal Phe 366 mmol/L, y en el segundo control Phe normal pero Tyr 258 mmol/L. A su ingreso tenía hipoproteinemia, hipoalbuminemia (2,6 g/dL; normal 3,3-5,4 g/dL), hipocoagulabilidad, galactosuria y amonio normal. El valor de aminotransferasa aspartato (AST) era 42 UI/L (normal <34 UI/L) y en los días siguientes desarrolló una ictericia colostática con aumento de gammaglutamil transpeptidasa (GGT) a 245 UI/L (valor normal <74 UI/L) y fosfatasas alcalinas a 900 UI/L (normal <450 UI/L). Valor de alfa-fetoproteína (AFP) >58.344 ng/mL (normal 0-10 ng/mL). Múltiple hiperaminoacidemia (citrulina 242 µmol/L [normal 8-36 µmol/L], metionina 110 µmol/L [normal 9-44 µmol/L], treonina 673 µmol/L [normal 46-222 µmol/L] y tirosina 383 µmol/L [13-91 µmol/L]) e hiperaminoaciduria. Vitaminas liposolubles plasmáticas: 25-OH-vitamina D<sub>3</sub> 7,1 ng/mL (normal 30-65 ng/mL), vitamina A 17 µg/dL (normal 42-68 µg/dL) y vitamina E 3,6 µg/dL (normal 8,6-13 µg/dL). Ecografía abdominal: parénquima hepático normal. Se sospechó tirosinemia I por hipertirosinemia y valores elevados de 4-fenil-OH-derivados en orina, pero la succinilacetona era negativa. También se sospechó galactosemia por galactosuria e hiperaminoaciduria. Ante la hipercitrulinemia e hipertreoninemia sin hiperamonemia, se analizó el gen *SLC25A13*. El paciente era homocigoto para la mutación c.1078C>T (p.R360X), que ha sido previamente asociada con NICCD. A los 39 días de vida, se retiró la LM y se administró fórmula semielemental, sin lactosa y rica en MCT. Mejoró progresivamente la función hepática, el perfil de aminoácidos, se negativizó la galactosuria. A los 9 meses tiene un crecimiento físico normal (percentiles de peso y talla entre P75 y P90) y el desarrollo psicomotor es normal.

## COMENTARIO

La citrulinemia II debe incluirse en el diagnóstico diferencial de la colestasis neonatal independientemente del origen étnico del paciente.

La citrulinemia II no es siempre una condición benigna. Por tanto, es importante instaurar un tratamiento precoz dietético sin lactosa, hiperproteico y enriquecido en MCT.

## 33

## TÍTULO

## Detección precoz de la deficiencia de cofactor de molibdeno analizando la muestra de orina en cribado neonatal ampliado

**LECTOR:** Daisy Castiñeiras Ramos

## AUTORES

Castiñeiras DE, Pombar M, Bóveda MD, Colón C, Couce ML, Cocho JA

## INSTITUCIÓN

Laboratorio Metabolopatías. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

## INTRODUCCIÓN

El déficit de cofactor de molibdeno (MoCo) es una enfermedad neurometabólica grave e infrecuente, de herencia autosómica recesiva, debida a mutaciones en los genes *MOCSI*, *MOCS2* y *GEPH*. Esta molibdopterina participa como cofactor de tres enzimas: sulfito oxidasa, xantina deshidrogenasa y aldehído oxidasa.

Las manifestaciones clínicas derivadas del déficit de MoCo se inician en el periodo neonatal y consisten en encefalopatía epiléptica, microencefalopatía, hiperekplepsia, retraso psicomotor severo, litiasis renal y luxación de cristalino.

El diagnóstico de esta patología se realiza a partir de las alteraciones bioquímicas que ocasiona. La disminución de la actividad enzimática de la sulfito oxidasa origina una elevación de la concentración plasmática de taurina y sulfocisteína y una disminución de la de homocisteína y cistina. El test de sulfitos en orina es positivo. El descenso de actividad de la xantina deshidrogenasa ocasiona excreción urinaria elevada de xantina e hipoxantina y una marcada hipouricemia. La confirmación de esta enfermedad requiere estudios enzimáticos y genéticos.

El programa de la comunidad gallega de cribado neonatal ampliado por espectrometría de masas en tándem (MS/MS) incluye la determinación de ácidos orgánicos, acilcarnitinas, acilglicinas y bases púricas y pirimidínicas como pruebas de segundo nivel en orina<sup>1</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Recién nacida que a los 3 días de vida presenta niveles de metionina de 7,1  $\mu\text{M}$  (VR >11,4); las pruebas de 2.º nivel en orina muestran excreción elevada de xantina y sulfocisteína. Se cita en la unidad de diagnóstico y tratamiento de enfermedades metabólicas congénitas y al mes de vida presenta el siguiente perfil bioquímico, compatible con la deficiencia de MoCo:

Orina (mmol/mol creatinina)					
Xantina	2.373	(VR <103)	Taurina	299	(VR <79)
Hipoxantina	223	(VR <93)	Sulfocisteína	59	(VR <47)
Ácido úrico	367	(VR >615)	Cistina	3,8	(VR >7)
Plasma ( $\mu\text{M}$ )					
Glutamina	1019	(VR <652)	Cistina	11,4	(VR >33)
Suero (mg/dL)					
Ácido úrico	<0,5	(VR >2,3)			

## CONCLUSIÓN

Aunque el déficit de MoCo no forma parte de los paneles de los programas de cribado neonatal ampliado (MS/MS), es posible su diagnóstico precoz a partir del diagnóstico diferencial de otras enfermedades que sí están incluidas en dichos paneles.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Rebolledo-Fernández MM, Castiñeiras DE, Bóveda MD, Couce ML, Cocho JA, Fraga JM. Development of electrospray ionization tandem mass spectrometry methods for the study of a high number of urine markers of inborn errors of metabolism. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2012; 26(18): 2.131-2.144.

## 34

**TÍTULO****Cribado neonatal ampliado en la comunidad de Madrid: experiencia de una unidad clínica de seguimiento****LECTOR:** Pilar Quijada Fraile**AUTORES**Quijada Fraile P<sup>1</sup>, Martín-Hernández E<sup>1</sup>, García-Silva MT<sup>1</sup>, Campos Martín P<sup>1</sup>, Merinero Cortés B<sup>2</sup>, Pérez Cerdá C<sup>2</sup>, García E<sup>3</sup>, Dulín Iñiguez E<sup>3</sup>**INSTITUCIÓN**<sup>1</sup>Unidad Pediátrica de Enfermedades Raras. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. <sup>2</sup>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares. CIBERER. Universidad Autónoma de Madrid. <sup>3</sup>Laboratorio de Cribado Neonatal. Hospital Gregorio Marañón. Madrid**INTRODUCCIÓN**

El cribado neonatal ampliado (CNA) permite detectar errores congénitos del metabolismo (ECM) con el objetivo principal de prevenir discapacidades. El CNA de la Comunidad Autónoma de Madrid se inició como estudio piloto en abril de 2011, instaurándose oficialmente el 10 de octubre de 2011. Durante el estudio piloto, el Hospital 12 de Octubre fue designado como unidad de seguimiento clínico. Tras su implantación oficial los pacientes detectados se envían a cuatro centros hospitalarios.

**OBJETIVOS**

Presentamos los diagnósticos encontrados en los casos remitidos desde abril de 2011 hasta la actualidad (total 26 meses).

**MATERIAL Y MÉTODOS**

Los pacientes han sido valorados en la consulta y se han realizado análisis básicos y especiales según síntomas clínicos y alteraciones bioquímicas. Se ha efectuado estudio genético en los casos requeridos para su confirmación.

**RESULTADOS**

De los 99 casos remitidos, 1 no acudió durante el estudio piloto. Se han confirmado 28 ECM, de los cuales 14 son defectos de la betaoxidación mitocondrial de los ácidos grasos ( $\beta$ -OAG) (7 casos con déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media [MCAD], 4 con déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga [VLCAD], 1 déficit de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga [LCHAD], 1 déficit de translocasa [CACT] y 1 déficit del transportador de carnitina [TC]), 9 son aminoacidopatías (3 fenilcetonurias por déficit de fenilalanina hidroxilasa, 3 hiperfenilalaninemias benignas, 1 caso de déficit de pterina-4-alfa carbinolamina dehidratasa, 1 déficit de cistationina betasintetasa y 1 déficit de metionina adenosil transferasa) y 5 son acidurias orgánicas (4 acidurias glutáricas tipo 1 [AG1] y 1 caso de metilcrotonilglicinuria [MCG]). Se han diagnosticado 3 madres de ECM (2 MCG y 1 TC), 8 deficiencias de carnitina (en estudio) y 3 deficiencias de vitamina B<sub>12</sub>.

**CONCLUSIONES**

Los diagnósticos más frecuentes encontrados son los defectos de la  $\beta$ -OAG. Dentro de las acidurias orgánicas, la más frecuente es la AG1. Otros beneficios adicionales del CNA han sido la detección de ECM y otras causas tratables en otros miembros de la familia (especialmente en las madres).

## SESIÓN 2

## 4

## TÍTULO

Defectos del metabolismo de la vitamina B<sub>12</sub> por alteración en la remetilación de la homocisteína dependiente de folato

LECTOR: Sara Beltrán García

## AUTORES

Beltrán-García S<sup>1</sup>, Baquero-Montoya C<sup>2</sup>, Caballero-Pérez V<sup>3</sup>, López-Úbeda M<sup>1</sup>, Cardiel-Valiente L<sup>1</sup>, Abizanda-Guillén AM<sup>1</sup>, Gil-Ferrer L<sup>1</sup>, García-Jiménez MC<sup>1</sup>

## INSTITUCIÓN

<sup>1</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Infantil Miguel Servet. Zaragoza. España. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín. Colombia. <sup>3</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Obispo Polanco. Teruel

## FUNDAMENTO Y OBJETIVOS

Los defectos genéticos en el metabolismo del folato y la vitamina B<sub>12</sub> producen hiperhomocisteinemia por defecto de la vía de la remetilación. Clínicamente pueden presentar alteraciones neurológicas, hematológicas y/o vasculares. La sospecha clínica permite un diagnóstico precoz y la instauración de tratamiento que mejore el pronóstico de la enfermedad. Presentamos tres casos con diferente etiología molecular y edad de presentación.

El objetivo es conocer estas enfermedades para poder realizar un diagnóstico correcto, evitando secuelas o diagnósticos tardíos.

## OBSERVACIONES CLÍNICAS

CASO 1: Lactante de 3 meses con anemia hemolítica normocítica y signos carenciales megaloblásticos en la serie roja, en el aspirado medular, sugestivos de déficit de vitamina B<sub>12</sub>. Presentan en sangre niveles normales de vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico tanto la paciente como la madre. Destaca una homocisteína de 159,4 µmol/L y metionina de 7 nmol/L sin aciduria metilmalónica, que sugiere una alteración del metabolismo intracelular de la vitamina B<sub>12</sub>. Confirmado genéticamente un defecto funcional de la metionina sintasa reductasa (gen *MSR* grupo CbIE). En tratamiento con hidroxycobalamina i.m. y betaína oral, con mejoría analítica y desarrollo psicomotor normal.

CASO 2: Lactante de 45 días de vida con anemia, grave afectación neurológica y megaloblastosis en médula ósea. Homocisteína de 166,7 µmol/L, metionina baja y aciduria metilmalónica. Grave deterioro clínico a pesar de tratamiento con hidroxycobalamina i.m. y ácido fólico. Se confirmó defecto de Cb C mediante estudios de complementación. *Exitus* a los 2 meses de vida.

CASO 3: Niña de 14 años con retraso psicomotor sin filiar desde los 2 años; en los últimos años tetraparesia espástica, debilidad muscular y radiculoneuropatía. Presenta alteraciones en la deglución y la respiración, confirmando mediante TAC y gammagrafía de perfusión un tromboembolismo pulmonar sin trombosis venosa periférica. Homocisteína 173 µmol/L y metionina baja. Estudio hematológico normal. Post mórtem, el análisis molecular confirmó deficiencia de MTHFR (p.F435S/p.F435S).

## COMENTARIOS

Los defectos de la remetilación de la homocisteína deben excluirse en pacientes con retraso psicomotor y/o alteraciones hematológicas. El tratamiento con betaína e hidroxycobalamina i.m. puede ser muy efectivo en algunos casos si se inicia de forma precoz. El tratamiento debe ser individualizado en cada caso.

## 6

**TÍTULO****Defectos congénitos de glicosilación  
más allá de los síntomas clásicos****LECTOR:** Laura Cardiel-Valiente**AUTORES**López-Úbeda M<sup>1</sup>, Cardiel-Valiente L<sup>1</sup>, Beltrán-García S<sup>1</sup>, Baquero-Montoya C<sup>2</sup>, Abizanda-Guillén AM<sup>1</sup>, Gil-Ferrer L<sup>1</sup>, González-Idazabal Y<sup>3</sup>, García-Jiménez MC<sup>1</sup>**INSTITUCIÓN**<sup>1</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Infantil Miguel Servet. Zaragoza. España. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín. Colombia. <sup>3</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Miguel Servet. Zaragoza**INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

Los defectos congénitos de glicosilación (CDG) son desórdenes de la N-glicosilación causados por la deficiencia de una de las 34 enzimas de la vía metabólica de los N-oligosacáridos. La mayoría de las manifestaciones comienzan en la infancia, con un espectro variable de síntomas que van desde retraso psicomotor grave con compromiso orgánico multisistémico a hipoglucemia y enteropatía pierdepoteínas con desarrollo normal. Sin embargo, son pocos los individuos descritos con CDG, lo que limita la realización de correlaciones genotipo-fenotipo y el conocimiento del pronóstico funcional de los pacientes. Nuestro objetivo es describir la heterogeneidad clínica y la complejidad en el diagnóstico, el tratamiento y el manejo de estos pacientes.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

Descripción de nuestros casos de CDG diagnosticados y controlados en nuestra unidad en el periodo comprendido entre 2001 y 2013.

**RESULTADOS**

Se han recogido un total de 6 casos. Uno es un CDG-Ib, 2 casos son CDG-Ia y 3 son CDG-Ix. Actualmente los 6 pacientes están vivos; 5 presentan retraso psicomotor de grado variable y la paciente afecta de CDG-Ib presenta un desarrollo psicomotor normal. En cuanto a las manifestaciones extraneurológicas, los CDG-Ix no han presentado ninguna, los CDG-Ia han presentado afectación endocrina y gastrointestinal y el CDG-Ib ha presentado afectación gastrointestinal y hematológica. En cuanto al diagnóstico, 3 de ellos carecen de diagnóstico molecular, lo cual dificulta el manejo, el pronóstico y el consejo genético. Respecto al tratamiento, éste es variable en los diferentes tipos, y la escasa bibliografía disponible dificulta el manejo estandarizado de estos pacientes.

**COMENTARIOS**

La introducción reciente de la técnica de secuenciación masiva del exoma permitirá el diagnóstico de pacientes con defectos de la glicosilación que no han sido filiados por medio de otros métodos. Es necesario comunicar estos casos con el fin de hacer correlaciones genotipo-fenotipo adecuadas que permitan la realización de guías de manejo para los profesionales, incluso instaurar medidas de prevención primaria y secundaria para algunas manifestaciones clínicas.



## 7

**TÍTULO****Diagnóstico de la enfermedad de Pompe por el laboratorio clínico****LECTOR:** Joaquín Bobillo Lobato**AUTORES**

Bobillo Lobato J, Durán Parejo P, Jiménez Jiménez LM

**INSTITUCIÓN**

Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

**OBJETIVOS**

La enfermedad de Pompe es una enfermedad metabólica, neuromuscular, rara y progresiva, con una alta morbimortalidad. La base es la deficiencia de alfa-glucosidasa ácida (GAA; EC 3.2.1.20), que hidroliza glucógeno. Los afectados son incapaces de degradar este polímero, que se acumula en los lisosomas.

Aún no existe un algoritmo bien consensuado que establezca un orden lógico en el desarrollo de las pruebas analíticas disponibles actualmente. El objetivo marcado es presentar el algoritmo diagnóstico para el laboratorio clínico desarrollado y evaluado desde nuestro servicio.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

- Población de 505 pacientes con sintomatología compatible.
- Determinaciones enzimáticas (DBS/linfocitos) llevadas a cabo mediante técnica espectrofluorimétrica (sustrato: 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-glucopiranosido).
- Determinación de glucosa tetrasacárido (Glc4) por HPLC con detección UV.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

El resultado del estudio de pacientes, la experiencia de nuestro servicio, el conocimiento de la enfermedad y la sucesión lógica de las pruebas (según sensibilidad/especificidad, eficiencia, costos...) llevaron al planteamiento del siguiente algoritmo: partiendo de un paciente con clínica susceptible, se procederá a realizar la determinación de actividad enzimática en sangre seca recogida en papel (DBS). Si aparecen alteraciones se solicitará nueva muestra, ésta de sangre total, acompañada de orina (24 horas). En la muestra de orina se cuantificará la concentración de Glc4 (aumento de sus niveles son compatibles con glucogenosis). Con la muestra de sangre total realizamos el estudio de actividad intralinfocitaria (técnica *gold-standard*). Si los resultados resultan positivos, se ha llegado al diagnóstico de enfermedad de Pompe.

De los 505 pacientes de partida obtuvimos 530 muestras DBS, de las cuales 42 resultaron patológicas. A partir de ellas se realizaron 35 determinaciones de actividad intralinfocitaria, encontrándose 16 con valores inferiores a la normalidad. Estas muestras se correspondían con 16 pacientes que finalmente fueron diagnosticados de enfermedad de Pompe. En todos ellos se observaron niveles de Glc4 elevados. De estos 16 pacientes, 12 presentaban la forma adulta de la enfermedad, 2 la forma infantojuvenil y 2 la forma infantil grave.

Gracias al diagnóstico realizado por nuestro laboratorio pudo pasarse a administrar tratamiento a muchos de estos pacientes.

## 9

**TÍTULO****Estudio de veracidad de la actividad  $\alpha$ -glucosidasa ácida en DBS****LECTOR:** Joaquín Bobillo Lobato**AUTORES**

Bobillo Lobato J, Durán Parejo P, Jiménez Jiménez LM

**INSTITUCIÓN**

Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

**OBJETIVOS**

Los resultados que proporciona el laboratorio clínico deben ser exactos (veraces y precisos) para proporcionar una información clínica correcta. Para estudiar la veracidad de un procedimiento de medida es necesario comparar los valores obtenidos con un valor supuestamente verdadero. En el laboratorio clínico, los programas de evaluación externa de la calidad nos proporcionan estos valores verdaderos. Por otra parte, la cuantificación de actividad  $\alpha$ -glucosidasa ácida constituye el método de diagnóstico de la enfermedad de Pompe, una neuropatía metabólica con importante morbimortalidad en todas sus formas de presentación.

Nuestra participación en un programa piloto de evaluación externa de la calidad del CDC de Atlanta para enfermedades lisosomales nos permitió realizar este estudio de veracidad.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Se reciben tres tarjetas (niveles bajo, medio y alto) para determinar los valores de actividad enzimática en sangre seca recogida en papel (DBS). Los resultados que han de remitirse al CDC son: media aritmética, desviación estándar (DS) y coeficientes de variación intra- e interensayo ( $CV_1$  y  $CV_2$ ). Las determinaciones enzimáticas se llevaron a cabo mediante técnica espectrofluorimétrica con 4-metilumbeliferil- $\alpha$ -D-glucopiranosido como sustrato. Las actividades se analizaron frente a curva de calibración con 4-metilumbeliferona.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La organización aporta un resultado único y un intervalo correspondiente a los valores que se encuentran dentro de los límites del error permitido. El valor proporcionado por cada laboratorio debe tener un error inferior al permitido y encontrarse dentro del intervalo de valores acreditado.

La desviación estándar y el coeficiente de variación son indicadores de la representatividad de la media y de la dispersión de los datos, de forma que una DS <1 y un CV <0,25 confirman una media muy representativa y poca dispersión. Así, nuestra DS (siempre <0,32) y nuestros CV (intra- e interensayos, siempre <0,06) muestran que existe una media muy representativa, muy poca dispersión y que la técnica presenta una muy buena repetitividad de resultados.

Por otro lado, el cálculo de errores es lo que realmente evalúa la veracidad de nuestros resultados. Todos nuestros valores presentan un error relativo, respecto del valor convencionalmente verdadero aportado por el programa de calidad, inferior al error máximo permitido por dicho programa (errores cometidos entre 0,02 y 0,26 frente a errores permitidos entre 0,27 y 3,63).

Así, tanto el cálculo de los errores como la DS y los CV de nuestra técnica ponen de manifiesto que nuestros resultados presentan una veracidad objetivamente demostrada.

El diagnóstico de la enfermedad de Pompe está empezando a instaurarse en nuestro país en algunos laboratorios de referencia, siendo imprescindible en este periodo cuidar la calidad de las determinaciones, estribando ahí la importancia del presente estudio.

## 10

**TÍTULO****Análisis de  $\alpha$ -aminoadípico semialdehído en orina de pacientes con enfermedades congénitas del metabolismo mediante LC-MS/MS****LECTOR:** Isaac Ferrer-López**AUTORES**

Ferrer-López I, Ruiz-Sala P, Merinero B, Pérez-Cerdá C, Ugarte M

**INSTITUCIÓN**

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid

**OBJETIVOS**

El  $\alpha$ -aminoadípico semialdehído ( $\alpha$ -AASA) se eleva en los fluidos biológicos debido a una deficiencia de la enzima  $\alpha$ -aminoadípico semialdehído deshidrogenasa (antiquitina), codificada por el gen *ALDH7A1*, en la ruta de degradación de la lisina. El análisis de  $\alpha$ -AASA facilita el diagnóstico de pacientes con convulsiones dependientes de piridoxina (PDE). Recientemente se han descrito también elevaciones de  $\alpha$ -AASA en pacientes con deficiencia de cofactor molibdeno (MoCo) y de sulfito oxidasa (SO). El objetivo de este trabajo es el desarrollo de un método analítico para cuantificar el  $\alpha$ -AASA en orina de pacientes con enfermedades congénitas del metabolismo de forma rápida y fiable.

**MATERIALES Y MÉTODO**

En este estudio se han incluido orinas de 180 individuos control, 11 pacientes PDE, 7 MoCo y 2 SO. Se ha analizado el  $\alpha$ -AASA en orina mediante LC-MS/MS en modo de ionización negativa y con detección por monitorización de reacciones múltiples (MRM). Se ha utilizado ácido  $\alpha$ -aminoadípico deuterado como patrón interno y sin deuterar como patrón de la curva de calibración. Tras formar los derivados FMOC se inyecta la muestra, mediante un método isocrático, a través de una columna C18 conectada directamente al espectrómetro de masas en tándem, con una duración de 3,5 minutos por análisis.

**RESULTADOS**

Se han establecido valores de referencia (mmol/mol creat) dependiendo de la edad (meses [m]): 0,3-2,9 en <6 m; 0,2-1,9 con 6-12 m y 0,1-1,7 en >12 m. Todos los pacientes PDE tienen valores por encima del rango de normalidad de  $\alpha$ -AASA en orina (9,1-246,4 mmol/mol creat), incluso a pesar del tratamiento prolongado con piridoxina. Asimismo, los pacientes MoCo (2,2-12) y SO (13,6; 28,5) también tienen una excreción elevada de  $\alpha$ -AASA.

**CONCLUSIONES**

El método es muy reproducible y robusto, y permite detectar elevaciones de  $\alpha$ -AASA en orina de forma rápida y sensible.

## 12

## TÍTULO

## Utilidad de un método rápido para la hormona tirotrópica (TSH) en el cribado de hipotiroidismo congénito

LECTOR: María Magdalena Vila Vidal

## AUTORES

García Suquía Á, Pérez Esteban G, Toral Laparra C, Pardo Riera A, Vila Vidal MM

## INSTITUCIÓN

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca

## INTRODUCCIÓN

El hipotiroidismo congénito es una patología que consiste en una disminución de los niveles de hormonas tiroideas en el plasma sanguíneo, aunque no se manifieste clínicamente hasta pasados unos meses. Se da en 1 de cada 2.500 recién nacidos vivos; de ahí el interés de detectarlo precozmente e incluirlo en el programa de cribado neonatal. En nuestro hospital, por protocolo, las TSH de la primera muestra superiores a 8  $\mu\text{UI/mL}$  deben repetirse por duplicado en la misma muestra. Esto implica un inconveniente en viernes y vísperas de festivo, por lo que es necesaria la implantación de un método rápido para la confirmación de ese primer resultado.

## OBJETIVO

Evaluar la utilidad de la determinación de TSH extraída del papel Watman 903 (método rápido) con el método utilizado para sueros en las muestras de *screening* neonatal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El método rápido consistió en añadir 300  $\mu\text{L}$  de tampón (Neo hTSH Assay Buffer) a las muestras. Después de 15 minutos de agitación, se midió la TSH con el autoanalizador Architect i2000 (Abbott) mediante inmunoensayo quimioluminiscente para suero. Dicho método se realizó a 39 muestras que presentaron unos niveles de TSH en el papel Watman 903 superiores a 8  $\mu\text{UI/mL}$  con el ensayo fluoroinmunométrico a tiempo resuelto y el lector VICTOR<sup>2</sup> D 1420. Los resultados obtenidos se obtuvieron mediante la regresión lineal entre los valores obtenidos con el lector VICTOR<sup>2</sup> D 1420 y el Architect i2000 (Abbott). Los resultados del Architect i2000 se multiplicaron por el factor de dilución y dividieron entre 2,2, equivalente a un hematocrito del 55%. A aquellos pacientes con una TSH superior a 7,5  $\mu\text{UI/mL}$ , se les solicitó una muestra de sangre periférica, en la que se midió la TSH ( $\mu\text{UI/mL}$ ) y la  $\text{fT}_4$  (ng/dL) en el mismo analizador para confirmar el diagnóstico. Con ello se calculó la sensibilidad y la especificidad.

## RESULTADOS

La evaluación de los resultados obtenidos se muestra en la tabla 1. El método rápido presentó una sensibilidad del 100% y una especificidad del 35%.

## CONCLUSIONES

El método rápido tiene una gran sensibilidad, por lo que consideramos que es una herramienta fiable para decidir la urgencia o no, en los días previos a los puentes y fines de semana, de realizar las pruebas confirmatorias (TSH y  $\text{fT}_4$  en sangre periférica). Esto aporta una mayor tranquilidad, tanto a la familia como a los responsables del laboratorio, al permitir demorar la extracción confirmatoria unos días en los casos en que el valor de TSH obtenido sea inferior a 7,5  $\mu\text{UI/mL}$ . La baja especificidad obtenida sería la misma que la obtenida con el método de cribado.

TABLA 1. Evaluación de los resultados obtenidos (m: muestras)

Papel Watman 903			
TSH >8 µUI/mL			
39 M			
Método rápido			
TSH <7,5 µUI/mL		TSH >7,5 µUI/mL	
12 M		27 M	
Hipotiroidismo congénito			
Con	Sin	Con	Sin
0 M	12 M	5 M	22 M

## 13

**TÍTULO****Análisis de ácido pipecólico por HPLC/MS/MS en pacientes con epilepsia dependiente de piridoxina, enfermedad peroxisomal e hiperlisinemia****LECTOR:** Pedro Ruiz-Sala**AUTORES**

Ruiz-Sala P, Ferrer I, Garrido M, Fernández M, Merinero B, Pérez-Cerdá C, Ugarte M

**INSTITUCIÓN**

Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM). CIBERER. IdiPAZ. Universidad Autónoma de Madrid

**FUNDAMENTO Y OBJETIVO**

El ácido pipecólico (PA) es un importante marcador bioquímico en algunas deficiencias relacionadas con la vía de degradación de la lisina, como son la epilepsia dependiente de piridoxina (PDE), los defectos en la biogénesis peroxisomal (BPD) y otras causantes de hiperlisinemia. Este trabajo describe la puesta a punto y validación de un método de análisis de PA en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) mediante HPLC/MS/MS y dilución isotópica con sensibilidad y precisión que ayude al diagnóstico bioquímico y control de estas enfermedades.

**MATERIAL Y MÉTODO**

Se analizaron muestras de suero y LCR de 12 pacientes con PDE, 5 BPD, 2 hiperlisinemias (una de ellas por deficiencia en alfa-aminoadípico semialdehído sintasa, AASS) y controles. Las muestras de suero o LCR, a las que se había añadido D<sub>9</sub>-PA como estándar interno deuterado, se desproteinizaron, evaporaron a sequedad y resuspendieron en fase móvil. El extracto obtenido se analizó por HPLC/MS/MS, sin derivatizar, con fase móvil H<sub>2</sub>O/MeOH/fórmico a 150 µL/min y columna de C18 (2,1 × 150 mm, 3 µm). Los PA y D<sub>9</sub>-PA se adquirieron por MRM en modo positivo (130/84 y 139/93, respectivamente) y la duración del análisis fue de 7 min.

**RESULTADOS**

Los resultados de la validación mostraron que el método era lineal ( $r > 0,99$ ) para los rangos de concentración estudiados (0-200 µmol/L de suero, 0-25 µmol/L de LCR). La precisión inter- e intraensayo ofreció unos CV  $\leq 10$  y  $\leq 5\%$ . El límite de detección en LCR fue  $< 0,05$  µmol/L, y la recuperación en ambos fluidos  $> 90\%$ . El uso de columna cromatográfica fue esencial para separar el PA de otros compuestos de igual MRM, como la 5-oxoprolina.

Los resultados del análisis en controles ( $1,2 \pm 0,6$  y  $< 0,10$  µmol/L, suero y LCR) estuvieron en consonancia con aquellos obtenidos con métodos más laboriosos. Los pacientes PDE siempre presentaron niveles aumentados respecto a controles, si bien tras la administración de B<sub>6</sub> disminuían (antes de B<sub>6</sub>: 14-55 y 0,8-9,1 µmol/L, suero y LCR; tras B<sub>6</sub>: 3,9-13,5 y 0,4-0,8 µmol/L, suero y LCR). Los pacientes BPD presentaron niveles desde ligeramente hasta muy elevados (4,6-506 y 0,4-7,0 µmol/L, suero y LCR). El paciente AASS tuvo niveles séricos de PA elevados tanto antes como después de restringir la lisina (32,8-37,8 y 21,0-59,5 µmol/L, respectivamente). Sin embargo, el otro paciente con hiperlisinemia sí normalizó niveles tras la restricción (3,8-37,8 y 1,2-2,7 µmol/L, antes y después, respectivamente).

**CONCLUSIÓN**

Se describe un método sencillo pero preciso y sensible en bajas concentraciones de PA. Permite diferenciar entre controles y pacientes PDE incluso en tratamiento con B<sub>6</sub>, y contribuye al diagnóstico bioquímico y/o seguimiento de pacientes BPD e hiperlisinemias.

## 14

**TÍTULO****Enfermedad de Canavan. A propósito de un caso****LECTOR:** M.<sup>a</sup> Ángeles Ruiz Gómez**AUTORES**

Ruiz Gómez MÁ, García Suquía Á, Aguilar Pérez I, Pérez Esteban G, Granda Navarro LF, García Villoria J, Vila Vidal M

**INSTITUCIÓN**

Servicio de Pediatría y Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca

**FUNDAMENTO**

La enfermedad de Canavan es un trastorno neurodegenerativo causado por mutaciones en el gen *ASPA* que codifica la enzima aspartoacilasa, responsable de la desacetilación del ácido N-acetil-aspartico (NAA) en el cerebro. Dicho ácido es imprescindible como dador de acetil-CoA para la formación de los lípidos implicados en la síntesis de mielina.

**OBSERVACIONES CLÍNICAS**

Niña nacida a las 38 + 2 SG mediante cesárea en podálica, con un peso de 2.700 g. Padres y hermana de 2 años sanos. Consanguinidad remota. En el cribado neonatal, se obtuvo un valor de tripsina inmunorreactiva (TIR) elevado. Por eso, se solicitó un estudio molecular para fibrosis quística (FQ), detectando la mutación F508del en heterocigosis. El test de sudor dio 59 mmol/L (VR: <60 mmol/L). Se prosiguió el estudio genético en busca de otra mutación.

A los 3 meses de edad, acudió a urgencias por disfunción neurológica, no fijación de la mirada, tendencia al sueño y rechazo de alimento. Se le realizó una ecografía transfontanelar y una resonancia magnética nuclear (RMN). Se observaron lesiones subagudas en cerebelo, tronco del encéfalo dorsal, vía óptica y motora. Las primeras opciones diagnósticas fueron el síndrome de Leigh y el síndrome de Kearns-Sayre. También se realizó un amplio estudio metabólico (aminoácidos, carnitina y acilcarnitinas en plasma, ácidos orgánicos y aminoácidos en orina, neurotransmisores y pterinas en LCR).

En el perfil de ácidos orgánicos destacó la elevación de NAA. Al cuantificarlo se obtuvo un valor de 756 mmol/mol de creatinina (VR: 4,0-25,0), característico de la enfermedad de Canavan. Se confirmó con estudio molecular del gen *ASPA* en biopsia de piel.

El resultado sugiere que la paciente es homocigota para la mutación c.914C>A, p.Ala305Glu.

El estudio molecular de FQ confirmó otras dos mutaciones en heterocigosis: R75Q y V317A.

**COMENTARIOS**

Nos encontramos ante un caso de una niña que presenta dos enfermedades genéticas que se heredan con carácter autosómico recesivo, la FQ y la enfermedad de Canavan, y cuyas mutaciones responsables se encuentran en cromosomas diferentes. Ya que debido al azar es posible pero muy poco probable, ¿podría ser que las dos patologías tuvieran algún nexo, aún desconocido, en común?



## 15

**TÍTULO****Utilidad del complejo heparina cofactor II-trombina como biomarcador en el diagnóstico de las mucopolisacaridosis I, II y VI****LECTOR:** Luis Aldámiz-Echevarría Azuara**AUTORES**

Llarena M, Andrade F, Sanjurjo P, Aldámiz-Echevarría L

**INSTITUCIÓN**

Unidad de Metabolismo. Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo (Bizkaia)

**RESUMEN**

La identificación y validación de biomarcadores para la detección temprana de las mucopolisacaridosis (MPS) resulta de gran importancia. Recientemente, se ha demostrado que los niveles en suero del complejo heparina cofactor II-trombina (HCII-T) están muy elevados, hasta 100 veces superiores a lo normal, en MPS que acumulan dermatán sulfato (MPS I, II y VI) y en menor medida en aquellas que acumulan heparán sulfato, elevándose 4 veces en la MPS III. Estos datos indican que el complejo HCII-T es un biomarcador fiable para la identificación y el diagnóstico de MPS I, II y VI.

Además, la determinación del complejo HCII-T en muestras de sangre seca ha mostrado datos preliminares muy prometedores, aunque se requieren más estudios con grupos más grandes de pacientes para determinar si estas medidas son tan fiables como las de suero para ser utilizadas en el diagnóstico, facilitándose así la recogida y envío de las muestras. Nuestros resultados muestran que la determinación conjunta de varios biomarcadores (el análisis cuantitativo de los glucosaminoglicanos en orina, la medida del complejo HCII-T en suero y sangre seca [para MPS I, II y VI] y un ELISA específico para heparán sulfato [para MPS III]), junto con la determinación enzimática de la enzima deficiente (para MPS I, II, VI y III), proporcionan las herramientas necesarias para distinguir entre los diferentes tipos de MPS y facilitar así el diagnóstico temprano de MPS.

## 20

**TÍTULO****Tratamiento enzimático sustitutivo precoz en el síndrome de Hurler-Scheie****LECTOR:** Laura López Marín**AUTORES**

López Marín L, González Gutiérrez-Solana L, Reig C, Monfort Belenguer L, Tamariz-Martel Moreno A, Santos Santos S, Troncoso Montero P, Moreno Moreno A

**INSTITUCIÓN**

Servicio de Neuropediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

**OBJETIVOS**

Describir la diferente evolución de dos hermanos con síndrome de Hurler-Scheie, que comenzaron el tratamiento enzimático sustitutivo (TES) con laronidasa a diferentes edades.

**OBSERVACIONES CLÍNICAS**

Los pacientes son dos hermanos de origen marroquí, sin antecedentes familiares conocidos de interés. La hermana mayor se diagnostica y comienza tratamiento a los 8 años de edad. En ese momento tiene un retraso ponderoestatural muy importante, disnea de reposo, síndrome de apnea obstructiva del sueño grave, disostosis múltiple con contracturas articulares a todos los niveles y mielopatía cervical radiológica sin subluxación atloaxoidea. Actualmente lleva 4 años y medio con TES. Han desaparecido las visceromegalias y ha mejorado su función pulmonar. Sin embargo, persiste el retraso ponderoestatural, las deformidades óseas y las contracturas graves, que limitan su vida diaria. Sigue necesitando ventilación mecánica no invasiva nocturna, ya que debido a la mielopatía radiológica no se ha podido realizar la amigdalectomía. No presenta disnea en reposo pero aparece ante esfuerzos mínimos. Su evolución académica es muy lenta. Su hermano, tras diagnóstico neonatal, inició el TES a los 4 meses de edad. Lleva en tratamiento 3 años y medio. Su desarrollo ponderoestatural es normal (talla en percentil >97), no ha desarrollado contracturas y su fenotipo Hurler es discreto (frente prominente, raíz nasal ancha). La serie ósea realizada a los 3 años y 6 meses es prácticamente normal (ligero ensanchamiento de las metáfisis de los huesos largos y el hueso frontal, alteraciones mínimas en las primeras vértebras lumbares). La resonancia magnética craneal y cervical (con 2 años) únicamente mostró espacios de Virchow-Robin aumentados. Su desarrollo psicomotor hasta la fecha está dentro de la normalidad.

**COMENTARIOS**

El TES con laronidasa es el tratamiento de elección en las formas intermedias de mucopolisacaridosis tipo I. Consigue mejoría a nivel somático (disminuye las visceromegalias y el depósito de glucosaminoglicanos a nivel miocárdico y ORL y aumenta la capacidad vital forzada). Sin embargo, la enzima no llega bien al hueso ni a las válvulas, por lo que no revierte las manifestaciones ya establecidas a estos niveles. Parece ser más efectivo cuanto antes se inicie.

## 24

**TÍTULO****Epilepsia como forma de presentación de la hiperprolinemia tipo I. A propósito de dos casos****LECTOR:** Ana Isabel Maraña Pérez**AUTORES**Maraña Pérez AI<sup>1</sup>, Puertas Martín V<sup>1</sup>, López Marín L<sup>1</sup>, González Gutiérrez-Solana L<sup>1</sup>, Domínguez Carral J<sup>1</sup>, Castaño de la Mota C<sup>1</sup>, Merinero Cortés B<sup>2</sup>, Pérez-Cerdá Silvestre C<sup>2</sup>**INSTITUCIÓN**<sup>1</sup>Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. <sup>2</sup>Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM). Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid**FUNDAMENTOS Y OBJETIVOS**

La hiperprolinemia tipo I (HPI) es un error congénito del metabolismo de la prolina causado por alteración del gen de la prolina deshidrogenasa (PRODH) en el cromosoma 22q11, que provoca niveles elevados de prolina en plasma y orina por disminución de la actividad de la prolina oxidasa (POX). Entre las manifestaciones clínicas podemos encontrar trastornos cognitivos y psiquiátricos, epilepsia y alteraciones renales. Se presentan dos casos de HPI con diferente expresión clínica.

**OBSERVACIONES CLÍNICAS**

CASO 1: El primer caso es una niña que presenta retraso psicomotor e hipotonía desde el nacimiento y en cuya exploración destaca una macrocefalia, frente prominente, raíz nasal aplanada e hipertelorismo. Antecedentes familiares sin interés y antecedentes personales normales salvo la presencia de una comunicación interventricular pequeña. Con 3 años inicia episodios de cese de actividad motora, sin automatismos ni movimientos anormales, de segundos de duración, que se tratan inicialmente con ácido valproico y posteriormente con levetiracetam, con buen control de las crisis. En varios electroencefalogramas se visualizan anomalías multifocales. En el estudio metabólico presenta aumento de prolina en plasma y aumento de prolina e hidroxiprolina en orina compatible con diagnóstico de HPI.

CASO 2: El segundo caso es un niño con exploración física normal, antecedentes personales y familiares sin interés, que inicia a los 2 años y 4 meses crisis parciales simples refractarias a tratamiento antiepiléptico. Varios electroencefalogramas muestran un foco frontotemporal derecho. En varias ocasiones el paciente ha presentado episodios de ataxia relacionados con fiebre y con la ingesta de determinados fármacos (fenitoína y oxcarbacepina). En el estudio metabólico se objetivó aumento de prolina en plasma y orina, aumento de hidroxiprolina y glicina en orina y aumento de glutamina en líquido cefalorraquídeo; todo ello compatible con HPI.

Ninguno de los dos pacientes ha presentado manifestaciones renales o psiquiátricas hasta el momento actual.

**COMENTARIOS**

La HPI puede cursar con diversas manifestaciones clínicas, entre las que predominan las crisis epilépticas. Esta entidad se debe incluir en el diagnóstico diferencial de todo niño con epilepsia, especialmente si es refractaria.

## 27

## TÍTULO

## Enfermedad de Menkes con afectación extensa de sustancia blanca y de ganglios basales

**LECTOR:** Luis González Gutiérrez-Solana

## AUTORES

González Gutiérrez-Solana L, Carreras Suárez I, López Marín L, Solís Muñoz I, García Peñas JJ, Domínguez Carral J, Puertas Martín V, López Pino MA

## INSTITUCIÓN

Sección de Neuropediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

## FUNDAMENTO Y OBJETIVOS

La enfermedad de Menkes es un trastorno neurodegenerativo del metabolismo del cobre, recesivo y ligado a X, que se caracteriza en su variante clásica por pelo rizado y grueso y regresión a partir de los 2-3 meses de vida, con hipotonía, crisis y falta de medro. La resonancia magnética craneal (RMC) presenta típicamente atrofia cerebral progresiva, colecciones subdurales bilaterales y alteración vascular característica. Presentamos un niño con neuroimagen atípica: afectación extensa de la sustancia blanca (SB) y alteración de la señal de los ganglios basales.

## CASO CLÍNICO

Varón nacido por cesárea a las 34 + 2 semanas de gestación por presentación podálica y CIR. PRN 1.705 g. REA III. Apgar 7/9. Hipoglucemia e ictericia neonatal. Intervenido de hernia inguinal al mes de vida. Infección urinaria a los 2 meses. A los 3 meses y 10 días de edad ingresa en UCIP por crisis parciales multifocales y crisis tónicas de repetición, que no ceden con la administración de antiepilépticos ni cofactores ni vitaminas. Entre las pruebas complementarias destaca: disminución acusada de ceruloplasmina (3,6 y 3,24 mg/dL; VN: 39-51 mg/dL), láctico en LCR de 40 mg/dL; abundantes *pili torti* en el examen al microscopio del pelo, y mutación grave en el gen *ATP7A*.

RMC (3 meses y 15 días): lesiones hiperintensas en T2 en SB subcortical supra- e infratentorial y lesiones hiperintensas en T2 en ambos caudados. RMC (4 meses y 10 días): progresión de las lesiones hiperintensas de SB supratentoriales, con aumento de volumen y significativo aumento de la difusión (edema vasogénico) supratentorial, y disminución de las hiperintensidades en SB cerebelosa con pérdida de volumen. Mejoría radiológica de la afectación de señal de las cabezas del caudado, con aparición de lesiones focales hiperintensas en ambos pálidos y putamen. La RM angiografía no muestra alteraciones. La RM espectroscópica de la SB muestra disminución severa de NAA y pico anómalo de lípidos móviles y lactato. Ante la sospecha clínica y bioquímica se inició tratamiento con cobre histidina. Las crisis fueron mejorando paulatinamente.

## COMENTARIOS

1) Los mecanismos patogénicos implicados en nuestro paciente (como en otros casos publicados) podrían ser: para las alteraciones de la SB, el edema vasogénico causado por el *status* epiléptico de crisis multifocales; y para las alteraciones de señal de los ganglios basales, el fallo energético (similar a las enfermedades mitocondriales). 2) La afectación difusa predominante de la SB y la afectación de los ganglios basales, en ausencia de atrofia cortical o tortuosidad vascular, no deben excluir, en presencia de hallazgos clínicos y bioquímicos típicos, el diagnóstico de enfermedad de Menkes.

## 28

**TÍTULO****Niña de 2 años con mucopolisacaridosis tipo I (MPS I) y genotipo p.[W402X];[p533R]: trasplante o no trasplante****LECTOR:** Luis González Gutiérrez-Solana**AUTORES**

González Gutiérrez-Solana L, Fournier del Castillo C, López Marín L, Coll MJ, Gort L, Cantarín Extremera V, González Vicent M, Ruiz A

**INSTITUCIÓN**

Sección de Neuropediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid

**FUNDAMENTO Y OBJETIVOS**

Las MPS I graves precisan llevar a cabo un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) precoz (antes de los 2 años), pues su objetivo terapéutico no es sólo mejorar la supervivencia y la enfermedad somática sino preservar, en lo posible, la integridad cognitiva del paciente. La presentación en el primer año de vida y la presencia de un genotipo «grave» apoyan la realización inmediata de un TPH. Presentamos una niña que subraya la necesidad de valorar cuidadosamente la correlación genotipo-fenotipo antes de plantear un TPH.

**CASO CLÍNICO**

Niña de 2 años y 12 días enviada para valoración por MPS I. La niña ha presentado un retraso en el desarrollo motor (enviada a rehabilitación al año de edad por no deambulación, comienza a andar a los 17 meses) y un fenotipo peculiar; sin embargo, su desarrollo cognitivo parece adecuado. Operada de hernia inguinal bilateral a los 4 meses. Pruebas complementarias: GAG 36,43 mg/mmol creatinina (0,65-12,44). RM cerebral: aumento de espacios perivascuales. Oftalmología: opacidad corneal ligera, más en lado izquierdo. En la exploración destaca: macrocefalia con prominencia frontal (PC: 51,5 cm [P97]), narinas antevertidas y raíz nasal hundida, mancha azulada lumbar. Hígado 5,2 cm, hernia umbilical de 2 cm. Ligero flexo de rodillas en bipedestación y mínima cifosis dorsolumbar en sedestación. Sube y baja agarrándose. Se pone de pie agarrándose. No corre. No salta. Comprensión y expresión adecuadas a su edad. Se inicia terapia enzimática sustitutiva. Estudio molecular: genotipo heterocigoto compuesto p.[W402X];[P533R], donde ambas mutaciones se relacionan con un fenotipo grave de la enfermedad. Neuropsicología. 2a1m: CD 120, retraso en motricidad gruesa. 2a4m: CD 114, retraso en motricidad gruesa. 2a10m. CIV 117, CIM 100, CIT 110. Déficit ligero en funciones motoras. Funciones perceptivas, lingüísticas, mnésicas, atencionales, ejecutivas cognitivas y observación comportamental normales.

**COMENTARIOS**

La MPS I es un continuo fenotípico. Este caso, con clínica menos grave, subraya la dificultad en la indicación de TPH en la MPS I. Si bien la mutación W402X se asocia invariablemente a enfermedad grave, la mutación P533R, aunque reportada como grave por Scott et al. (Hum Mutat 1992) y sugerida como tal en otros textos, se ha visto que puede asociarse a fenotipos intermedios y leves de MPS I. La información sobre la correlación fenotipo-genotipo es de gran utilidad para la indicación de TPH. La decisión del TPH debe tener en cuenta la edad, el genotipo, la valoración neurológica y neuropsicológica, la existencia de un donante adecuado y la morbimortalidad del procedimiento.

## 29

## TÍTULO

## Seguimiento de dos pacientes con déficit de isobutiril CoA deshidrogenasa

LECTOR: Esther María Peralta Rufas

## AUTORES

Peralta-Rufas EM, Romeo-Lázaro E, Murillo-Sanjuán L, Beltrán-García S, Baquero-Montoya C, González-Irazábal Y, López-Pisón J, García-Jiménez MC

## INSTITUCIÓN

Servicio de Pediatría. Hospital Infantil Miguel Servet. Zaragoza

## INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTOS

El déficit de isobutiril CoA deshidrogenasa es un trastorno en el metabolismo de la valina, de carácter autosómico recesivo. Esta enzima cataboliza el paso de isobutiril CoA a metacril CoA en la matriz mitocondrial. Cursa generalmente de forma asintomática, por lo que en la actualidad la mayoría de los pacientes son detectados en el cribado neonatal por un aumento de isobutirilcarnitina (C4). No se describen hallazgos clínicos característicos de esta entidad, y el diagnóstico se basa en el estudio molecular del gen *ACAD8*. Nuestro objetivo es notificar la existencia de dos nuevos casos, uno de diagnóstico por cribado neonatal y otro detectado en el estudio de hipoglucemia sintomática.

## OBSERVACIONES CLÍNICAS

CASO 1: Primera hija de padres sanos no consanguíneos, de origen español, sin antecedentes familiares de interés, que en contexto de gastroenteritis aguda a los 2 años de edad presenta varios episodios de hipotonía, pérdida de conciencia e hipoglucemia cetótica. En estudio metabólico se objetiva elevación persistente de C4, por lo que se realiza estudio molecular donde se observa la mutación en homocigosis c.512C>G en el exón 5 del gen *ACAD8* (p.Ser171Cys). En su evolución destaca la presencia de síncope de repetición y la carnitina baja en alguna ocasión, que ha precisado suplementación.

CASO 2: Segunda hija de madre de origen mexicano, nacida a las 36 + 2 semanas de gestación tras embarazo sin incidencias. En *screening* neonatal se detecta elevación de C4, y cocientes C4/C2, C4/C3 y C4/C8 de forma persistente, por lo que se realiza estudio molecular con detección de mutación en heterocigosis compuesta p.Glu262Lys (c.784G>A) y p.Cys283Tyr (c.848G>A) en los exones 7 y 8, respectivamente, del gen *ACAD8*. Hasta el momento actual presenta un adecuado desarrollo ponderoestatural y psicomotor, sin otros hallazgos clínicos.

## COMENTARIOS

El déficit de isobutiril CoA deshidrogenasa es un trastorno poco frecuente; sólo se han descrito unos 22 casos en la literatura hasta la actualidad. Debe descartarse ante un *screening* neonatal con aumento de C4. En el momento actual se discute la necesidad o no de acciones terapéuticas y de control a largo plazo. En una de nuestras pacientes (caso 1) desconocemos si los síncope de repetición y la hipoglucemia pueden ser debidos a su patología.



# ÍNDICE DE AUTORES

Abizanda-Guillén AM	P4, P5, P6	García F	P11
Aguilar Pérez I	P14	García Jiménez MC	P1, P4, P5, P6, P18, P26, P29
Alcalde C	P18	García Peñas JJ	P27
Aldámiz-Echevarría L	P1, P15, P17, P18	García Suquía A	P12, P14
Andrade F	P15, P17, P18	García-Silva MT	P1, P11, P34
Artuch Iriberry R	P19	García Villoria J	P14
Balmaseda-Serrano E	P1, P22	Garrido M	P13
Baquero Montoya C	P4, P5, P6, P26, P29	Gil D	P18
Belanguer-Quintana A	P1	Gil-Ferrer L	P4, P5, P6
Beltrán-García S	P4, P5, P6, P26, P29	Gil Hernández I	P26
Blasco J	P18	Gil Ortega D	P22
Bobillo Lobato J	P7, P9	González D	P18
Bóveda MD	P33	González Gallego I	P22
Bueno Delgado M	P1, P18, P21	González Gutiérrez-Solana L	P20, P24, P27, P28
Caballero-Pérez V	P4	González Irazábal Y	P5, P6, P26, P29
Campistol Plana J	P19	González-Lamuño D	P18
Campos Martín P	P34	González Vicent M	P28
Cantarín Extremera V	P28	Gort L	P28
Cardiel-Valiente L	P4, P5, P6	Granda Navarro LF	P14
Carreras Suárez I	P27	Gutiérrez Sánchez A	P19
Castaño de la Mota C	P24	Herrera Díaz-Aguado A	P21
Castejón Ponce E	P1, P19	Jiménez Jiménez LM	P7, P9
Castiñeiras DE	P33	Juan Fita MJ	P22
Castro Reguera M	P21	Lage S	P18
Cocho JA	P33	Lama-More R	P1
Coll MJ	P28	Lambruschini Ferri N	P19
Colón C	P33	Leal F	P11
Conde Sánchez M	P21	Llarena M	P15, P17, P18
Couce ML	P1, P18, P33	López J	P31
Dalmau J	P1, P18, P31	López Marín L	P20, P24, P27, P28
Del Toro-Riera M	P1	López Pino MA	P27
Delgado Pecellín C	P21	López-Pisón J	P29
Domínguez Carral J	P24, P27	López-Úbeda M	P4, P5, P6
Dulín Iñiguez E	P34	Maraña Pérez AI	P24
Durán Parejo P	P9, P7	Martín E	P11
Egea Castillo N	P19	Martín-Hernández E	P1, P34
Egea Mellado JM	P22	Martínez-Pardo M	P1
Fernández M	P13	Meavilla Olivas S	P1, P19
Fernández Sánchez A	P22	Merinero Cortés B	P10, P11, P13, P21, P24, P34
Ferrer-López I	P10, P13	Monfort Belenguer L	P20
Fournier del Castillo C	P28	Moráis A	P1
García AM	P31	Moreno Moreno A	P20
García Arenas D	P19	Murillo-Sanjuán L	P29
García E	P34	Pardo Merino B	P26
		Pardo Riera A	P12

Pedróñ-Giner C	P1
Peña-Quintana LJ	P1
Peralta-Rufas EM	P29
Pérez C	P31
Pérez Cerdá C	P10, P13, P21, P24, P34
Pérez de Soto I	P21
Pérez Esteban G	P12, P14
Pérez González B	P22
Pintos-Morell G	P1
Polo B	P31
Pombar M	P33
Puertas Martín V	P24, P27

Quijada Fraile P	P1, P11, P34
------------------	--------------

Rausell D	P31
Reig C	P20
Rodríguez Pombo P	P26
Romeo-Lázaro E	P29
Ruiz A	P28
Ruiz M	P18
Ruiz MA	P18

Ruiz Gómez MÁ	P14
Ruiz-Pons M	P1
Ruiz-Sala P	P10, P13

Sánchez-Valverde F	P18
Sanjurjo Crespo P	P1, P15, P17
Santos Santos S	P20
Sanz P	P11
Serrano-Nieto J	P1
Sierra-Córcoles C	P1
Solís Muñiz I	P27
Sorribes Estorch J	P26

Tamariz-Martel Moreno A	P20
Toral Laparra C	P12
Troncoso Montero P	P20

Ugarte M	P10, P11, P13
----------	---------------

Vila Vidal M	P12, P14
Vitoria I	P1, P18, P31
Vives-Piñera I	P1

